

الأمان النسبى للمبيدات الميكروبية والحيوية

إعداد

أ. د. زيدان هندي عبد الحميد

أستاذ كيمياء المبيدات والسموم

جامعة عين شمس - كلية الزراعة

الناشر

كانزا جروب

الأمان النسبي للمبيدات الميكروبية والحيوية على الفقاريات واللافقاريات

الأستاذ الدكتور
زيدان هندي عبد الحميد
أستاذ كيمياء المبيدات والسموم
كلية الزراعة - جامعة عين شمس

الناشـر
كانزا جروب
٢٠٠٦ - ٢٠٠٧

الأمان النسبي
للمبيدات الميكروبية والحيوية
علي الفقاريات واللافقاريات

◎ إعداد: الأستاذ الدكتور

زيدان هندي عبد الحميد

أستاذ كيمياء المبيدات والسموم

كلية الزراعة ـ جامعة عين شمس

◎ التنسيق الداخلي: أحمد حسين عواد

◎ الناشر: **كانزا جروب للنشر والتوزيع**

٩ عمارات أعضاء هيئة التدريس بجامعة عين شمس
الدمرداش ـ القاهرة ـ جمهورية مصر العربية
ت/ف: ٤٨٥٤٧١١ ـ ٤٨٣٥٥٤٣ (٢٠٢)

◎ الطبعة: الأولي ٢٠٠٦ (جميع حقوق الطبع والنشر © ٢٠٠٥محفوظة للناشر)

◎ رقم الإيداع: **١٦٤٢٩ / ٢٠٠٥**

إهـــــــداء

ﮩ إلي والدي ووالدتي رحمة الله عليهما ....

ﮩ تحية وإعزاز وتقدير إلي زوجتي العزيزة ....

أ.د. نجوي محمود محمد حسين

رئيس بحوث معهد بحوث وقاية النبات

مركز البحوث الزراعية ــ وزارة الزراعة

ﮩ الزوجة التي شاركتني مر الحياة وحلوها.... وكانت لي عونا كبيرا ولأسرتي خير راعيا.... مع الدعاء أن يحفظها الله ويرعاها....

ﮩ أبنائي الأعزاء/ **عمرو زيدان ــ أيمن زيدان ــ خالد زيدان** وفقهم الله .... فقد كانوا عونا وسندا لنا كل الوقت.

ﮩ أساتذتي وزملائي بكلية الزراعة جامعة عين شمس ــ الجامعات الأخرى ــ مراكز البحوث والمعاهد البحثية..... لما قدموه لي من عون صادق.

ﮩ أحفادي/ **سلمي أيمن   زياد عمرو   سليم أيمن**

فهرس الكتاب

الباب الثالث

أمان المبيدات الحشرية الميكروبية على الفقاريات

الباب الرابع

أمان المبيدات الحشرية الميكروبية على اللافقاريات غير المستهدفة ٣١٣

الباب الخامس

اعتبارات الأمان لأنواع بكتريا باسيلليس والوسائل الحيوية الفطرية والنيماتودية ومتطلبات التسجيل ٣٧٥

الباب السادس

المخاطر البيئية للممرضات الحشرية والكائنات الدقيقة والنباتات المهندسة وراثيا بين التشريع والأمان الحيوي ٤٢١

الباب الأول

متطلبات تسجيل واعتبارات الأمان في وسائل المكافحة الميكروبية للآفات

الفصل الأول: المبيدات الحيوية الميكروبية بين الواقع التقنى والتجارى ومتطلبات التسجيل

الفصل الثاني: المركبات المضادة للحشرات والمشتقة من الكائنات الدقيقة

الفصل الثالث: متطلبات تسجيل واعتبارات الأمان في وسائل المكافحة الميكروبية للآفات

الفصل الأول

المبيدات الحيوية الميكروبية بين الواقع التقنى والتجاري ومتطلبات التسجيل

بالرغم من أن المبيدات الحشرية الميكروبية تمثل أقل من ١٪ من المبيعات العالمية للمبيدات فان المكافحة الميكروبية للآفات اكتسبت وما زالت الكثير من الأهمية. هذا يرجع إلى الأداء المحسن والمنافسة السعرية للميكروبات بالإضافة إلى زيادة مقاومة مفصليات الأرجل للمبيدات الحشرية الكيميائية. استخدام المبيدات الميكروبية ينمو ويتزايد بمعدل سريع يتراوح من ١٠- ٢٥٪ كل عام. الباسيلليس ثورينجينسيز تمثل الهدف الرئيسي لتطوير المنتجات وأصبحت تمثل معظم المبيعات في حدود ما يقرب من ٧٥ مليون دولار وهى السوق العالمي لمنتجات المكافحة الحيوية (Stanes وآخرون ١٩٩٣). في الحقيقة فان المبيدات الحيوية الميكروبية تقدم مصدر لاكتشاف مواد ووسائل جديدة فعالة في مكافحة الآفات الضارة في الزراعة والصحة العامة وآفات الغابات. التطويرات الأساسية تحققت مع الباسيلليس ثورينجينسيز، الباسيلليس سفيريكس، والفطريات الممرضة للحشرات والباكولوفيروسات والتي سوف تلعب دورا مؤثرا حتى الوصول إلى مرحلة النمو في المبيدات الحيوية.

منتج أو مستحضر الباسيلليس ثورينجينسيز (BT) ذات قيمة كبيرة في الإدارة المتكاملة للآفات IPM لأنها أقل ضررا على المفترسات وأشباه الطفيليات عما هو الحال مع المبيدات الكيميائية ذات المدى العريض broad spectrum ومن ثم تكون فعالة كي تحل محل المبيدات الكيميائية فيما يعرف "طاحونة المبيدات الحشرية insecticide treadmill كما أنها سوف تسمح بشفاء ومعاودة ظهور ونمو مجاميع وعشائر الأعداء الطبيعية. كما هو الحال مع العديد من المبيدات الحيوية فإنها قليلة الفاعلية بنفسها بالمقارنة بالمبيدات الكيميائية. حيث أن هذه البكتريا تستخدم في نظام الإدارة المتكاملة للآفات عند الحاجة مما يعمل على الحفاظ على الأعداء الطبيعية فان تأثيراتها تقيم عن طريق فعل هذه الأعداء الطبيعية مما يجعل استخداماتها في حماية المحاصيل الزراعية ذات مردود اقتصادي ومتواصل.

باسيلليس ثورينجينسيز Bacillus thuringiensis (BT):

الباسيلليس ثورينجينسيز بكتريا موجبة لجرام عصوية الشكل تنتج بلورات باراجرثومية Parasporal تتكون في واحد أو أكثر من البروتينات. عندما تقوم الحشرة بتناول البكتريا يحدث تحلل بروتيني Proteolyzed للتوكسين الأولى Protoxin بداية إلى بروتين توكسين نشط والذي ينتشر خلال الغشاء حول الغذائي Peritrophic membrane ويرتبط على المستقبلات على الغشاء الطلائى للمعى الأوسط ومن ثم تتوقف الحشرة عن التغذية. عندما يرتبط التوكسين النشط فان التداخل المفترض بين المستقبل ـ التوكسين يصبح غير عكسي ويعتقد أن التوكسين يغرس في الغشاء مسببا حدوث موضع ضرر أو تكوين ثقب. تكوين الثقوب يحدث خلل في نظام تدرج أيون البوتاسيوم مما يؤدى إلى حدوث انتفاخ في microvilli ثم تتحطم وتتلف. يحدث تعرض لضرر في تكامل معدة الحشرة في الهيموسيل. الجراثيم يحدث لها إنبات وتستسلم الحشرة Succumbs لتعفن دم قاتل Lethal septicemia (Stranes وآخرون ١٩٩٣). سوف نتناول هذه العملية بالتفصيل فيما بعد.

ولو أن BT لوحظت بداية بواسطة Ishilwata في اليابان عام ١٩٠٢ فان الوصف العلمي سجل عام ١٩١١ بواسطة Berliner في ألمانيا. لقد قام Steinhaus في الولايات المتحدة الأمريكية بتأكيد الآفاق التجارية لبكتريا BT عام ١٩٥٠. في الحقيقة فانه من ١٩٤٨ وما بعدها تم تسجيل تسعة مستحضرات BT بواسطة وكالة حماية البيئة الأمريكية EPA وحدها كما في الجدول التالي:

المبيدات الحيوية للباسيلليس BT المسجلة بواسطة وكالة EPA

الكائن الدقيق *Microorganism*	سنة التسجيل *Year of registration*	الآفة المستهدفة *Target Pest*
1- *Bacillus popilliae*	1948	Japanese beetle larvae
2- *B. thuringiensis (BT)*	1961	Lepidopteran larvae
3- *B. t. israelensis*	1981	Mosquito/ black fly larvae
4- *B. t. aizawai*	1981	Lepidopteran larvae
5- *B. t. tenebrionis*	1988	Certain beetle larvae
6- *B. t. EG2348*	1989	Gypsy moth larvae
7- *B. t. EG2371*	1989	Lepidopteran larvae
8- *B. t. EG2424*	1990	Lepidopteran/ Coleopteran larvae
9- *B. t.* Psudomonas	1991	Lepidopteran/ Coleopteran larvae

Source: Starnes et al., (1993)

اكتشاف بكتريا BT. Tenebrionis فتح مجالات جديدة وأفاق واسعة لسلالات ذات أنشطة جديدة. يمكن فصل السلالات بناء على شكل السوط والطرز السيرولوجى ومورفولوجية البللورات ونظام الفرد الكهربى SDS- PAGE والبلازميد. العديد من الشركات ادعت جمع الاف من عزلات الباسيلليس BT من كل مكان معيشة أو بيئة يمكن تصوره. لقد تم أكتشاف العديد من أنواع البللورات الجديدة وقد أدى توصيف الجينيات والبروتينات من هذه العزلات إلى الحصول على العديد من براءات الاختراع وحقوق الملكية والاحتكار Patents. مع اكتشاف العديد من التوكسينات الجديدة تم اقتراح نظام جديد للتقسيم Classification بناء على تركيب البروتين وقد اتسع نطاق اتباع واستخدام هذا التقسيم للتوكسينات الجديدة كما أشار بذلك الباحث Lee وآخرون ١٩٩٨ والذي يشار اليه كما في الجدول التالي:

تقسيم البروتينات التي تعمل كمبيدات حشرية من بكتريا BT بالنظر للعوائل المختلفة:

حرشفية الأجنحة Lepidopteran	ثنائية الأجنحة Dipteran	غمدية الأجنحة Coleopteran
Cry 1 Aa (133.5)	Cry 2 Aa (70.9)	Cry 3 Aa (73.1)
Cry 1 Ab (131.0)	Cry 4 Aa (134.4)	Cry 3 Ba (74.2)
Cry 1 Ac (133.3)	Vry 4 Ba (127.8)	Cry 7 Aa (74.4)
Cry 1 Ba (138.0)	Cry 10 Aa (77.8)	Cry 3 Ca (73.8)
Cry 1 Ca (134.8)	Cry 11 Aa (72.4)	Cry 1 Ib (81.2)
Cry 1 Cb (134.0)	Cyt 1 Aa (27.4)	
Cry 1 Da (132.5)	Cyt 2 Aa (29.2)	
Cry 1 Fa (133.6)		
Cry 9 Aa (129.7)		
Cry 2 Aa (70.9)		
Cry 2 Ab (70.8)		
Cry 1 Ib (81.2)		

Source: Lee et al., 1998; Figures . parentheses express mass in KDa.

بالإضافة لهذه البروتينات تملك بكتريا BT توكسينات أخرى مثل ألفا، بيتا، دلتا- اكسوتوكسينات وكذلك البروتين الخضري الابادى على الحشرات (Vip 3 A) (Estruch وآخرون ١٩٦٩).

بالرغم من المميزات العديدة إلا أن بكتريا BT تواجه بعض الصعوبات في اتجاه الاستخدام التجارى. المدّى العوائلى المحدود يعتبر من بين هذه التحديات والصعوبات في هذا الاتجاه. لتفادى هذا الوضع تم إجراء العديد من التجارب والمحاولات لمكافحة ثاقبة الذرة الأوربية وهى من آفات رتبة حرشفية الأجنحة Lepidopteran وخنفساء كلورادو البطاطس من خلال التعامل مع البلازميد ونقل البلازميد Md -150 من بكتريا BT كورستاكى وبلازميد Md -88 من البكتريا BT تينيبريونيس والتي تم دمجها في كائن واحد (Starnes وآخرون ١٩٩٣).

المشكلة الثانية التى تواجه البكتريا BT تتمثل في خطورة المقاومة resistence. عندما يستمر استخدام بكتريا BT كحل تكنولوجي منفرد كما هو الحال مع المبيدات الكيميائية التى سبقتها فإنها ترش بانتظام مما أدى بمدى من الآفات الحشرية لتطوير المقاومة. في التجارب المعملية طورت فراشة الدقيق الهندية "بلوديا انتربنكتلا (هبنر) مقاومة ٣٠ مثل في جيلين وبعد ١٥ جيل وصل مستوى المقاومة ضد BT كورستاكى- HD1 (ديبيل) إلى ١٠٠ مرة أعلى مما هو الحال مع الحشرات غير المعاملة (Mc Gaughey ١٩٨٥). على نفس المنوال أظهرت المجاميع الحقلية في الفراشة ذات الظهر الماسى "بلوتيلا زيلوستيلا" (لينيس) ٢٥- ٣٠ مرة أقل سمية عما هو الحال مع الحشرات الحساسة (Tabashnic وآخرون ١٩٩٠) أو دودة اللوز الأمريكية "هليوسيزيس فيرسينس (فابريكس)" المقاومة للتوكسين Cry I A أظهرت كذلك مقاومة مشتركة للتوكسينات الأخرى لبكتريا BT والتي تختلف كثيرا في التركيب والفاعلية (Gould وآخرون ١٩٩٢).

المشكلة الثالثة المرتبطة ببكتريا BT تتمثل في نقص معظم الخصائص الحيوية المطلوبة لوسيلة المكافحة الحيوية مثل القابلية أو المقدرة على التكاثر وتوطيد نفسها في المحاصيل. الميزة الفاتحة للوسائل الحيوية بالنسبة للمبيدات الكيميائية تتمثل في قدرتها على قتل الحشرات في اتجاهين اى الاستجابة الوظيفية والتكاثر على حساب الآفة أى الاستجابة العددية مما يحقق بعضا من المكافحة في أجيال الآفة في المستقبل. بكتريا BT لم تتكيف على البقاء أو الثبات في البيئة المحصولية كما أن التطوير التجارى ركز قليلا على الاحتفاظ بقدرتها على التكاثر والانتشار ولكنه عظم كثيرا من تأثيرات التوكسين الخاص بها القاتل للحشرات. بكلمات أخرى فان التطوير التجارى للبكتريا ركزت على استخدامها على غرار المبيدات الحشرية الكيميائية وليس كوسيلة مكافحة

حيوية حية. هذا يمثل الحقيقة مع التطور الجاري للمبيدات الحيوية في الوقت الحـالي. هذا يعكس كذلك حقيقة أن صناعات الكيميائيات الزراعية عديدة القوميات والتي سادت تطور المبيدات الحيوية ذات مهارات تقليدية واهتمامات محددة على إنتـاج وتسـويق المركبات شبيهة المبيدات. ليس هناك محل للشك بأن هذه الهيئات التجارية قد استخدمت طرق وتقنيات جزيئية مختلفة لتطوير المنتجات من خلال دمج الجينات من السـلالات المختلفة لزيادة الفاعلية- بالإضافة إلى ذلك فـان انـدماج Fusion الجينـات مـن الباكولوفيروسات مع جينات بكتريا BT استخدم لتوسيع المدى العوائلى للباسيلليس. هذه المنتجات تمر بمراحل مختلفة من التطور وحتى الاتجار.

يوجد قليل من الدراسات متاحة في اتجاه استخدام بكتريا BT علـى المجمـوع الخضري للنباتات حيث تتغذى الحشرات. من المطلوب أن يتم تناول BT كي تحـدث الفعل على الحشرات ولذلك فان طرق استخدام الميكروب تتطلب الكثير مـن العنايـة. استخدام BT ضد آفات الغابات درست بعناية van Frankenhuyzen ١٩٩٣، ١٩٩٧ مع آخرين) حيث تم تسجيل الحجم المناسب للقطرات والتوزيع الملائـم فـي أشـجار الغابات مما أدى إلى تحسين التطبيق وتحقيق مكافحة تكافئ ما يحدث مع أكثر المبيدات شيوعا واستخدامها في هذه البيئات. يوجد عدد من الحشرات التى تتغذى على الثمـار والتي يصعب قتلها تحت الظروف الحقلية. في هذا الخصوص فان الطرق لهندسة جين أو جينات الباسيلليس BT مباشرة في النبات أو في الكائنات التـى تسـتعمر النبـات لمجابهة هذه المشكلة تتقدم لدرجة أن برامج الهندسة الوراثية للنباتات بغرض مكافحـة الآفات تكتسب أرضية يوما بعد يوم. لقد تم هندسة نباتات الذرة والقطـن والبطـاطس والدخان وراثيا للتعبير عن جينات بلورات البروتين (كراى Cry) من بكتريا BT.

بالرغم من أنه يوجد عدد من العيوب لهندسة جينات بكتريا BT في النباتات مثل تطور المقاومة وقبول العامة للأغذية المهندسة وراثيا إلا أن الهيئات التجارية ترى في الأفق مميزات عديدة بالإضافة إلى زيادة الفاعلية. النباتات المهندسة وراثيا في الوقـت الراهن تحتوى جينات BT فردية وهى نباتات جيل أول وسوف تتبع بنباتات متطـورة من جيل ثاني وثالث مع مرونة كبيرة للاستخدام في نظام الإدارة المتكاملـة للآفـات IPM. الجيل الثاني من النباتات المهندسة وراثيا المقاومة للحشرات تحـت التطـوير تشمل كلا بروتينات BT وبروتينات غير الباسـيليس (Estruch وآخـرون ١٩٩٧).

برامج IPM في المستقبل تتضمن دمج المنتجات الميكروبية BT المحورة والمهندسة وراثيا مع أنواع عديدة من النباتات المهندسة وراثيا ومنتجات BT التقليدية.

في النظرة التجارية نقول أنه في الوقت الراهن يتم إنتاج العديد من ملايين الكيلوجرامات من بكتريا BT كورستاكي HD-1 سنويا في الولايات المتحدة الأمريكية والدول الأخرى. في أمريكا وحدها تستخدم هذه التقنية على ٣٠ محصول مسجلة عليها ضد ما يزيد عن ١٠٠ نوع من الآفات الحشرية واسعة الانتشار على مستوى العالم (Lee وآخرون ١٩٩٨). على نفس المنوال نجحت العديد من تجارب التفرقة بين BT إلى تعريف سلالات ذات بروتينات لها مدى عوائلى عريض من بين آفات حشرات حرشفية الأجنحة وغمدية ونصفية الأجنحة. البكتريا BT اسرائيلينسيز تعتبر الآن من أكبر المنتجات التجارية لمكافحة البعوض والذباب الأسود التى تعتبر ناقلات للأمراض التى تصيب الإنسان على مستوى العالم. الفحص بأشعة اكس للكشف عن تركيب بروتين Cry IIIA لبكتريا BT تينيريونيس (Li وآخرون ١٩٩٨) فتحت المجال لهندسة البروتين وتصميم تراكيب مبيدات حشرية بكتيرية من الباسيلليس BT.

باسيلليس سفيريكس Bacillus sphaericus (BS):

الباسيلليس سفيريكس (BS) وسيلة ميكروبية أخرى واعدة لمكافحة البعوض. خلال مرحلة التجرثم تقوم بكتريا BS بإنتاج بلورات جراثيم خارجية Parasporal تحتوى على بروتينات عديدة سامة ليرقات البعوض (Yaf, 1995). اليرقات من جنس الكيوليكس ذات حساسية خاصة لهذه التوكسينات أما يرقات الانوفيليس ذات حساسية متوسطة أما يرقات بعوض الابيديس مقاومة لحد ما.

تعريف المكونات السامة وتتابع الدنا المكلون Arapinis) Cloned DNA وآخرون ١٩٨٨) أدت إلى تحديد نوعان من البروتينات السامة الكبرى ذات ٥١، ٤٢ KDa واللاتي ترجمت فرديا من وحدة نسخ فردية ذات bicistronic. بمجرد تناول البلورة بواسطة يرقة البعوضة فان بروتينات 51 KDa و 42 KDa تذوب في المعى القلوى وتجهز من خلال التحلل البروتينى proteolytically إلى بروتين 43 KDa و 39 KDa على التوالى. لقد أتضح أن البروتين 42 KDa لا يحدث سمية إلا اذا كان مصحوبا ببروتين 51 KDa (Broadwell وآخرون ١٩٩٠). ميكانيكية الفعل السام على المستوى الجزيئى غير مفهوم ولكن دراسات الميكروسكوب الالكتروني أوضحت أن الموقع الأولى لإحداث الفعل يحدث في خلايا المستقيم الأعور المعدي gastric caecum

والمعي الخلفى حيث الفجوات والانتفاخ في الميتوكوندريا. باستخدام البروتينات المشـــعع 51- and A2 KDa فشل الباحث Davidson وآخرون (١٩٩٠) في اســترداد أو إنقــاذ السمية التى حفزت بواسطة البروتين 42KDa التى تغذت بعد بروتين 51 KDa إذا تــم عكس المعاملات. الصورة الفعالة للبروتين 51 KDa تبقى مرتبطة مــع نســيج المعــى الأوسط حتى ٢٤ ساعة للتداخل مع بروتين 42 KDa. هذا ولو أنه في غياب بروتين 51 KDa فان البروتين 42 KDa قد يرتبط مع موقع أخر على الغشاء.

التوكسين البللورى لبكتريا BS سام عند تركيزات منخفضة وهو ثابت فــي البيئــة المائية وهو قاتل لليرقات في المياه الملوثة. ليس لهذه البكتريا تأثير ضار علــى الكائنــات غير المستهدفة والأسماك والحياة البرية أو الإنسان كما أنها تقــدم أســلوب جديــد وآمــن لمكافحة الناقلات المرضية التى تتوالد في مياه الصرف الملوثة. النشاط الباقي الكبير ضــد اليرقات لبكتريا BS من المميزات الظاهرة بما يفوق كفاءة BT اسرائيلينسيز. هذا ولو أنها تكمل بعضها البعض في الاستراتيجية الشاملة لمكافحة البعوض.

هذه المحدودية التي تجابه بكتريا BS تتمثل في المدى العوائلى المحدود. حتــى مع تفاوت الحساسية بين أنواع البعوض بشكل ملحوظ بسبب الاختلافات فــي قابليــة الارتباط على المستقبل و/ أو موقع الفعل (Davidson ١٩٨٩). لقد لوحظت مقاومــة ميدانية لبكتريا BS في البرازيل والهند. ميكانيكية هذه المقاومة غير معروفة. هذا ولو أن المستوى العالي من المقاومة الذي لوحظ في المعمل وجد أنه يرجــع إلــى نقــص ارتباط المستقبل في المعى الأوسط.

الفطريات الممرضة للحشرات Entomopathogenic Fungi

ارتباط الفطريات بالحشرات من الأمور المعروفة جيدا وبعضها يسبب أمراض خطيرة في العوائل. لقد وجد أن ما يقرب من ٧٥٠ نوع من الفطريات التى تنتمي إلى ٥٦ جنس تهاجم مفصليات الأرجل الأرضية والمائية. من الفطريات الأكثــر شــيوعا الممرضة للحشرات تلك التى تنتمي إلى ثلاثــة تحــت أقســام مــن Eumycotina. الفطريات الممرضة للحشرات كوسائل تجارية لمكافحة الحشرات لم تحدث أية أضرار. هذا ولو أن المنتج "Bio- 1020" الذي طور بواسطة شركة باير يعتمد على الفطــر Metarrhizium anisopliae لمكافحة آفات رتبة غمدية الأجنحة على نباتات الزينة المختلفة (Mc Donald ١٩٩١). My car هو المنتج الذي ينتج بواسطة معامل أبوت في أمريكا باستخدام الفطر Hirsutella thompsonii لمكافحة أكــاروس المــوالح

فيلوكوبتروتا أوليفيرا (Ashmead). يوجد العديد من أنواع الفطريات الأخـرى مـن مراحل الاتجار أو الإنتاج بغرض التجريب في أمريكا والبرازيـل وبعـض البلـدان الأخرى. من الأنواع الأكثر شيوعا التى تستخدم والأكثر توزيعا الأنواع التالية الموزعة كثيرا على مستوى العالم.

Beauveria bassiana, Culicinomyces clavisporus, H. thompsonii, M. anisopliae, Nomuraea rileyi, Verticillum lecanii, Colletotrichum gloeosporioides, Cercospora rodmanii, Peniophora gigantea and *Trichoderma viride (McDonald, 1991)*

هذه الفطريات ذات أهداف متخصصة على الحشرات مثل خنفسـاء كلـورادو البطاطس والفراشة الغجرية وثاقبة الذرة الأوربية ودودة الصنوبر ويرقات البعـوض وأكاروسات الموالح والباصوق والمن والبق الأخضر والـذباب الأبـيض والتـربس والنطاطات والصراصير والعديد من يرقات حرشفية وغمدية الأجنحة (Zimaenrman ١٩٩٣). أظهرت بعض الدراسات الحديثة مقدرة الفطريات B. bassiana وكذلك V. lecanii ضد المن الأخضر الانجليزى سيتوبيون أفينى وكذلك من الدردار الصـوفى "ايريوسوما أمريكانوم".

الكونيديا Conidium : هى وحدة العدوى في الفطريات الممرضة للحشرات والتي قد تخترق كيوتيكل الحشرة من جراء الضغط الميكانيكى بواسـطة الأنبـوب الجرثـومى والانهيار الانزيمى للكيوتيكل. سلالات هـذه الفطريـات تنـتج الإنزيمـات المحللـة للبروتينات Proteases والمحللة للكيتين Chitinases في المزرعة السائلة. من المثير للاهتمام أن البروتيزيس ينتج أولا في المزارع وهى أساسية فـي اتجـاه هـدم مـادة البروتين قبل أن يقوم الفطر بهدم الكيتين. بمجرد اختراق الكيوتيكـل والتغلـب علـى ميكانيكيات الدفاع في العائل يقوم الفطر بالتكاثر Proliferates على شـكل أجسـام الهيفات والتي تتضاعف بالتبرعم budding. ينتشر الفطر خلال الهيموسيل ومن ثـم تموت الحشرة عادة بعد ٣- ١٤ يوم بعد استخدام الجراثيم. التوكسينات التـى تنـتج بواسطة هذه الفطريات تلعب دورا كبيرا كذلك في احداث المرضية وقد تم عزل عـدد من هذه الكيميائيات الألليلية allelochemicals وتم تعريفها كما سيرد لاحقا.

حيث أن الأمان هو أحد العوامل الكبرى في اتجاه التطوير والاستخدام العملي للمبيدات الميكروبية أظهرت العديد من الدراسات الباثولوجية أو المرضية عدم حدوث

أية تأثيرات ضارة على الإنسان والثدييات أو النباتات. أظهرت دراسات أخرى مع الفطر M. anisopliae عن طريق الحقن والاستنشاق والتغذية والعيون والجلد ضد الجرذان والأرانب وخنازير غينيا والفئران والأسماك والعصافير... الخ عدم حدوث أية تأثيرات مرضية كما في الجدول التالى.

حيوان الاختبار	طريقة الفعل	التأثير
- الجرذان	الحقن- الاستنشاق- التغذية	ـ لا توجد تأثيرات سامة LD5O الحادة عن طريق الفم والجلد أكبر من ٢٠٠٠ مللجم/ كجم
- الفئران	التغذية- الحقن	
- خنازير غينيا	التغذية- الاستنشاق	ـ لا توجد تأثيرات سامة أو مرضية
- الأسماك	استخدام الكونيديا في الماء	ـ لم تلاحظ تأثيرات سامة
- العصافير	اختبارات السمية مع التغذية	ـ لم تلاحظ اختلافات في الوفيات عن المقارنة
- الأرانب	معاملات عن طريق الجلد الأعين	ـ لم تلاحظ أية تأثيرات جانبية ضارة - لم تحدث التهابات على الجلد أو الاعين

كفاءة وفاعلية الفطريات في مكافحة الآفات الحشرية تعتمد على الظروف البيئية السائدة بعد المعاملة خاصة ما يتعلق بالرطوبة النسبية. لكي يسمح للفطر بالنمو تحت درجة الرطوبة النسبية الملائمة يكون من الضرورى تطوير مستحضرات تحتفظ بالرطوبة moisture- retaining في الحقيقة فان التربة هى من أكثر البيئات ملائمة للمكافحة الحيوية بواسطة الفطريات لأنها تحتوى على المحتوى الصحيح والمناسب من الرطوبة وهى عادة مناسبة لنمو الفطريات. ضوء الشمس ودرجة الحرارة تمثل تحديات أخرى لاستخدام المبيدات الحيوية الفطرية حيث أنها تفقدها نشاطها وفاعليتها. لذلك يكون من الأهمية اختيار العزلات التى تنمو سريعا في درجات الحرارة بعد استخدام الجراثيم. لكي نحسن من كفاءة الممرضات الفطرية فان الطرق المبتكرة من التكنولوجيا الحيوية تفيد في المناورة بالصفات المرغوبة. طرق التحول Transformation والدنا المندمج تستطيع أن تعطى رؤية وتصور عن النظام لتحسين وراثية هذه الكائنات لكى تستخدم كوسائل لمكافحة الحشرات في المستقبل.

الباكولوفيروسات Baculoviruses:

الفيروسات تعتبر وسائل مكافحة حيوية عالية التخصص. الباكولوفيروسات عبارة عن فيروسات دنا مزدوجة التخطيط عالي التخصص للعوائل الحشرية. هذه الفيروسات خيطية الشكل وفى الغالب تغرس في داخل غلاف البروتين الواقي

المعروف بالاسم "الجسم الضمنى occlusion body" التى تساهم في تحديد ثباتها في البيئة. الباكولوفيروسات توضع وتقسم إلى المراتب التالية: (i) فيروسات البولىهيدروزيس النووية (NPV) التى توجد فيها العديد من جسيمات الفيروس في كل جسم ضمين مكونة بروتين بولىهيدرين، (ii) الفيروس المحبب granulosis virus (GV) والتي يوجد فيها جسيم فيروس واحد في كل جسم ضمين تتكون من بروتين الجرانيولين، (iii) الفيروسات غير الضمينة والتي تنتقل كجسيمات حرة. من بين هذه المراتب الثلاثة تعتبر المرتبتان الأولى والثانية نموذجية للإدارة المتكاملة للأفات حيث أنها أمنة على الإنسان والبيئة والحشرات النافعة غير المستهدفة.

بالرغم من أن الباكولوفيروسات عزلت أساسا من حشرات غشائية وحرشفية الأجنحة إلا أن قليل من العزلات عزلت من ثنائية وغمدية وشبكية الأجنحة والترايكوبترا والقشريات. معظم هذه الفيروسات تم تطويرها لأغراض الاستخدام في الغابات والمزارع فقط.

التناول هو الطريق الرئيسي لكيفية احداث الفعل. بمجرد تناول الفيروس بواسطة يرقة حرشفية الأجنحة يذاب بروتين الجسم الضمين في عصير المعدة القلوي (درجة حموضة من ٩- ١٠,٥) مما يحرر ويطلق جسيمات الفيروس. هذه الجسيمات تعدى خلايا المعدة وتتضاعف ثم تنتشر للأعضاء الأخرى كفيروس غير ضمين. بينما أن جسيمات الفيروس هذه تصبح كجسم ضمين متأخرا في دورة الحياة. عندما تموت اليرقات يتم انفراد كميات كبيرة من الأجسام الضمينة في البيئة مما يؤدى إلى عدوى يرقات أكثر. الوقت المطلوب لقتل الحشرة يعتمد على النوع ولكن هذا الوقت يتراوح بوجه عام من ٣- ٧ أيام. قد تكون الفترة من ٣- ٤ أسابيع اعتمادا على التداخلات بين الفيروس والحشرة والنبات. عملية عدوى الحشرة سوف توصف بالتفصيل فيما بعد.

الباكولوفيروس الأول الذي تم تسجيله للاستخدام التجارى كان فيروس Helicoverpa Zea (Boddie) NPV (H2NPV). لقد تم انتاج وتسويق الفيروس بواسطة شركةساندوز في عام ١٩٧٥ تحت الاسم التجارى الكار Elcar. لقد تم إنتاج الفيروس H2 NPV بنجاح وعلى مستوى كبير في الصين باستخدام طريق إنتاج نصف إلى فاستخدمت في حقول القطن وفول الصويا والدخان والذرة والسورجم والطماطم لمكافحة H. armigera. لقد قام الباحثان Hardee and Bell (١٩٩٧) باستخدام H2 NPV الناتجة من ٨ مليون يرقة H. Zea في معاملة ٨١٠٠٠ هكتار

من النباتات العائلة في بداية الموسم. حديثا تم اكتشاف فيروس غير ضمين من حشرة H. Zea (Raina and Adams ١٩٩٥). الفيروس أطلق عليه الاسم "فيروس التكاثر H2 reproductive virus (H2 RV) H2 وهو يعدى الأنسجة التناسلية فقط لكلا الذكور والإناث مما يجعلها عقيمة بشكل تام. ينتقل الفيروس خلال البيض والحيوانات المنوية. في الوقت الحالي تستخدم الباكولوفيروسات على نطاق واسع في البرازيل حيث يحمى NPV لدودة الفول القطيفية ٥٩٠٠ هكتار من فول الصويا ضد هذه الآفة. تستخدم الباكولوفيروسات في روسيا والصين كذلك بعد سنوات عديدة. بينما تستخدم في روسيا لمكافحة آفات الغابات إلا انها في الصين تستخدم لمكافحة الآفات في الحقول الزراعية. في أوربا تقوم بعض الشركات بتطوير الباكولوفيروسات أو أنها تمكنت من إنتاج منتجات تحتوى على الباكولوفيروسات مثل GV الفراشة الغجرية، NPV لذبابة قش الصنوبر الأوربية، NPV للدودة القارضة في البنجر، NPV لنطاط البرسيم. بسبب وفرة وقلة تكلفة العمالة تم تقديم الباكولوفيروسات في الدول النامية وهى أماكن نموذجية للإنتاج. لقد اقترح Starnes وآخرون (١٩٩٣) أربعة استراتيجيات لاستخدام المبيدات الفيروسية:

١- ينشر الفيروس من تطبيقات محدودة حيث يقوم بالتنظيم الدائم والمستمر لمجموع الحشرة من خلال المكافحة الحيوية التقليدية.

٢- يتم تحقيق وبائية epizootic حيوانية من خلال الانتشار الرأسي والأفقي ولكن معاودة الاستخدام قد تكون ضرورية بسبب عدم استدامة المكافحة.

٣- العدوى الرأسية في البيئة يحافظ عليها ويعاود تنشيطها من خلال المناورة البيئية.

٤- يلجأ لتكرار المعاملات لمكافحة مجموع حشرة بسبب عدم وجود نشر أفقي للفيروس- هذه استراتيجية واسعة الاستخدام بسبب كفاءتها وفاعليتها.

الباكولوفيروسات حساسة جدا للأشعة فوق البنفسجية UV من ضوء الشمس. لقد استخدمت العديد من الوسائل الكيميائية بما فيها محدثات البريق الضوئي Optical brightners كحاميات للفيروس NPV (Shapiro ١٩٩٢). لقد تم اختبار ٣٢ من هذه المواد الكيميائية ووجدت فعالة ضد الفراشة الغجرية. الباكولوفيروسات تستخدم كناقلات للتعبير عن البيولوجيا الجزيئية المندمجة في الإنسان. لقد ساعد ذلك العلماء في عملهم لغرس جينات خاصة في جينوم الباكولوفيروس وبذلك يمكن تحقيق مقدرة الباكولوفيروس على القتل المبكر. بسبب استخدام الباكولوفيروسات كنظام للتعبير

وكمبيد حشرى اتجهت الأبحاث نحو تحسين الانتاج خارج وداخل الجسم. هذا ولــو أن النظم الخارجية In vitro system لم تثبت فائدتها بسبب نقص الإنتاجيــة والتكــاليف العالية وحساسية الخلايا لظروف النمو والطفرية وصيانة العقم.

المعدل المنخفض للقتل يظل محددا للمحدودية للباكولوفيروسات. هدف الهندســة الوراثية للباكولوفيروسات للاستخدام كمبيدات الحشرية يتمثل في دمج مرضية الفيروس مع الفعل الابادى للتوكسين كمبيد حشري وكذلك الهورمون أو الإنــزيم (Bonning and Hammock ١٩٩٦). في هذه الحالات فان تتابع جين البوليهيدرين من الجينيوم الفيروسي يمكن إحلاله بمنطقة الكود للجين الغريب والذي هــو تحــت بــادئ جــين البوليهيدرين القوى. في هذه الحالات فان هذا الاقتراب يبدو مجديا (Meada وآخرون ١٩٩١، Stewart وآخرون ١٩٩١). من بين التطويرات الحديثة التعبير عــن ســم العقرب (AaIT) تحت سيطرة البادئ من الجــين المبكــر الواقــع (iel) للفيــروس AcMNPV مما يسبب التعبير المبكر عن التوكسين.

من الطرق الأخرى لتقليل زمن القتل ما يتمثل في تحسين نظم المستحضــرات والتطبيق. الخفض الاضافى في تكاليف الانتاج وموائمة الأداء الحقلي والتغلب علــى العقبات التنظيمية والتشريعية ضروري للتمكين من تطوير منتجات أكثــر اقتصــادية وفاعلية. النواحي البيئية المرتبطة بالاتجار في الفيروسات/المندمجة مثل التداخل مــع الفقاريات والأنواع النافعة وغير المستهدفة واحلال الفيروســات الطبيعيــة والثبــات الوراثى للكائنات المندمجة سوف تبقى مؤثرة. بعض التحويرات مثل الفيروسات التــى بها بولهيدرين ناقص، الجسم الضمين المرافق، الجسم الضمين المسبق تــم تطويرهــا لتجنب ثبات الفيروسات المندمجة في الطبيعة (Wood ١٩٩٥). بالنسبة للفاعلية فان الانتاج بواسطة التخمر يعتبر ويمثل التحدى التقنى الأكبر. الانتاج يحتاج إلى تحســين كبير محسوس فيما وراء التكنولوجيا الجارية. لكي تتحقق المنافسة في الأسواق الكبرى يكون مطلوبا توفير إنتاج على مدى واسع باستخدام مخمرات سعة ١٠٠,٠٠٠ لتر يوميا (Rice وآخرون ١٩٩٨). زراعة خلايا العائل الحشري على هذا المستوى يعتبر من المجالات الجديدة دون أية ضمانات للنجاح. هذا ولو أن منتج الباكولوفيروس المحــور وراثيا سيصبح في حيز الحقيقة. إلا أن الحصول على موافقات تشريعية لاســتخداماته سوف تظل مثار تساؤلات في حاجة للإجابات.

البروتوزوا Protozoa:

البرتوزوا الممرضة للحشرات توجد في كل المجاميع الكبرى من البروتوزوا لكن الميكروسبوريديا تمثل القسم الرئيسي لهذه الممرضات. المبيدات الحيوية التى تعتمد على البروتوزوا (لم تحدث تأثيرات ضارة ذات معنى ولا توجد دراسات كثيرة متاحة. المادة الوحيدة المسجلة هى Nisema Locustana لمكافحة النطاط والتي سجلت بواسطة وكالة حماية البيئة الأمريكية EPA عام ١٩٨٠ (Colon ١٩٨٠). يستخدم المركب في صورة طعوم حيث تعامل به المناطق والمساحات الحساسة للمبيدات الحشرية الكيميائية والمكافحة ذات الأثر الباقي في المسطحات الخضراء وفى حدائق المنازل (Henery ١٩٧١). هذا ولو أن البحوث مطلوبة لتقدير الطور المبكر الممكن الكشف عنه في النطاطات والطريقة المثلي لأخذ العينات للكشف عن العدوى. هذه البحوث سوف تساهم في تقييم العدوى بالنوزيما لوكستا بعد التطبيقات الحقلية للبروتوزوا. لكي يتحقق استخدام فعال للبروتوزوا الممرضة يكون مطلوب التوصيف على المستوى الجزيئى للأنواع والأجناس المرتبطة بها بما يساعد في التعريف المناسب للأنواع والإنتاج الواسع والمناورة الجينية الوراثية وما يستتبع ذلك من استخدام مناسب لوسائل المكافحة الميكروبية.

مستقبل المبيدات الميكروبية: ولو أن الميكروبات كائنات مفيدة في الإدارة المتكاملة للآفات ألا أنه توجد صعوبات وعوائق محددة وهى نقاط واجب التركيز عليها في المستقبل. من بين هذه النقاط الأكثر أهمية التحديات التشريعية خاصة مع الميكروبات المهندسة وراثيا حيث أن البيانات المطلوبة تظهر أكثر من اللازم كما يطلب مزيد من البحوث الأساسية الدقيقة على المستوى الصناعي أكثر منها على المستوى الاكاديمى بسبب وجود فجوة في التكنولوجيات الخاصة بالعلاقة بين التكاليف والفاعلية الخاصة بالفطريات والفيروسات والحوافز الاقتصادية لتطوير وتحديث التكنولوجيات وكذلك هناك حاجة لمزيد من البحوث عن التطبيقات التكنولوجية. استخدام الميكروبات يتطلب كذلك اهتمام زائد بمعرفة سلوك الآفة وبيولوجيتها وديناميكية المجموع. على المرء أن يكون مفهوم واضح عن الاختلافات بين المركبات الكيميائية والحيوية وطرق استخدامها.

REFERENCES

- Colon, J. M. (1980) *Nosema locustae* exemption from requirement of tolerance. *Fed. Reg.*, 45, 31312-31313.
- Davidson, E. W. (1989) Variation in biding of *Bacillus sphaericus* toxin and wheat germ agglutinin to larval midgut cells of six species of mosquitoes. *J. Invertebr. Pathol.*, 53, 251, 259.
- Gould, F., Martinez-Ramirez, A., Anderson, A., Ferre, J., Silva, F. J. and Moar, W. J. (1992) Broad spectrum resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in Heliothis virescens. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 89, 7986, 7990.
- Hammock, B. D., Bonning, B. C., Possee, R. D., Hanzlik, T. N. and Maeda, S. (1990) Expression and effects of the juvenile hormone esterase in a baculovirus vector. *Nature*, 344, 458-461.
- Ignoffo, C. M. and Couch, T. L. (1981) The nucleopolyhedrosis virus of *Heliothis* species as a microbial insecticide. In H. D. Burges (ed.), *Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980*, Academic Press, New York, PP. 329-362.
- Li, J., Carrol, J. and Ellar, D. J. (1991) Crystal structure of insecticidal 8-endotoxin from *Bacillus thuringiensis* at 2.5 A Resolution. Nature, 353, 815-821.
- McDonald, D. (1991) Biopesticides- pesticides with a bright future. Int. *Pest Cont.*, 33, 33-35.
- Neilsen- Leroux, C., Charles, J.-F., Thiery, I. and Gorghiou, G. P. (1995) Resistance in a laboratory population of Culex QuinQuifasciatus (Diptera: Culicidae) to *Bacillus sphaericus* binary toxin is due to a change in the receptor on midgut brush-border membrane. Eur. J. Biochem., 228, 206-210.
- Rice, M. J., Legg, M. and Powell, K. A. (1998) atural products in agriculature- A view from the industry. *Pestic. Sci.*, 52, 148-188.
- Tabashnik, B. E., Cushing, N. L., Finson, N. and Johnson, M. W. (1990) Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). J. Econ. Entomol., 83, 1671-1676.
- VanFrankenhuyzen, K. (199?) The challenge of *Bacillus thuringiensis*. In P. F. Entwistle, J. S. Cory, Bailey and S. Higgs (eds.), *Bacillus thuringiensis, an Environmental Biopesticide: Theory and Practice*, Wiley, New York, PP. 1-35.
- Wood, H. A. (1995) Genetically enhanced baculovirus insecticides. In M. Gunasekaran and D. J. Weber (eds.), *Molecular Biology of the Biological Control of Pests and Diseases of Plants*, CRC Press, Boca Rotan Florida, PP. 91-104.
- Zimmermann, G. (1993) the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. *Pestic. Sci.*, 37, 375-379.

الفصل الثاني

المركبات المضادة للحشرات والمشتقة من الكائنات الدقيقة

الكائنات الدقيقة تشمل تنوع فى الكائنات فى خلفيات نشوء مختلفة وهى البكتريا البدائية Archaebacteria – Eubacteria – Eucaryota. البكتريا البدائية تشمل العديد من الكائنات الحية التى تعيش فى بيئات متناهية التباين كما فى المناطق ذات الحرارة العالية. الايوبكتريا تشمل معظم البكتريا الشائعة والبكتريا الخيطية مثل الاكتينومايسيتس. الايوكاريوتس تشمل الفطريات والخميرة. هذه الكائنات تستطيع العيش فى بيئات متنوعة تشمل الينابيع الساخنة والمناطق تحت المتجمدة والصحارى والمحيطات. كما هو متوقع من الكائنات المتنوعة يمكن عزل نواتج تمثيل متنوعة ولكن القليل من المجاميع درست باستفاضة بحثا عن مركبات مضادة للحشرات. من بين هذه المجاميع التى درست الفطريات حيث أنها المصدر الرئيسى لمعظم نواتج التمثيل الثانوية ذات الفاعلية ضد الحشرات يليها الاكتينومايسيتس. البكتريا ممثلة فى الباسيلليس ثورينجينسيز يحتمل أن تكون مصدر معظم البروتينات المضادة للحشرات. Antiinsectan proteins.

مصادر المركبات المضادة للحشرات تعكس اتجاهات البحوث التى أجريت فى الماضى بواسطة الحكومات والجامعات والصناعة. مثال ذلك ما تقدمه البيئات الخاصة بالتخمر من مصدر للتفرقة والوقوف على النشاط الحيوى فى الصناعة خاصة عندما تدمج بالتقييم والتحليل ضد الكائنات الاخرى أو مستهدفات الزراعة أو النواحى الصيدلانية. هذا على الرغم من أن الهدف المنشود يتمثل فى التخليق الكيميائى للمركب الفعال (أو المركبات المشتقة من التراكيب الاولى البادئة) أو الاشتقاق من سائل التخمر الناتج فعلا بما يسمح بالتطوير للمستوى التجارى عند الطلب (كما فى حالة الافيرمكتينات، الاسبينوسينات Spinosyns وغيرها). كيمياء الدمج Combinatorial chemistry تسمح بالانتاج السريع لمشتقات التركيب القائد كما أن التحليل المتعدد Multi-well plate أستخدم فى تناسق وتكامل مع الكاشفات detectors كقارئات للاطباق الدقيقة تسمح بالانتاج السريع (Borman ١٩٩٩). بسبب نجاح النباتات المهندسة وراثيا فى التعبير عن صور محورة من بروتينات الباسيلليس ثورينجينسيز

دمجا مع مدى الكفاءة المحدود فقد أستخدمت تفرقة التخمر البكتيرى لاكتشاف بروتينات فعالة ضد الحشرات (purcell ١٩٩٧، warren ١٩٩٧).

بسبب أن المبيدات الحشرية تشتق من المركبات التى أظهرت بداية فاعلية ونشاط ضد الفقاريات مثل المركبات الفوسفورية العضوية والكاربامات) فقد تم بحث ودراسة فاعلية المركبات ذات النشاط على الفقاريات ضد الحشرات لاغراض المقارنة واكتشاف تراكيب رائدة ضد الحشرات تحقق اختيارية خلال الاشتقاق. من أوائل هذه المركبات الميكوتوكسينات المشتقة من الفطريات Mycotoxins.

الاقترابات البيئية استخدمت كذلك لتعريف المركبات الميكروبية ذات الفاعلية ضد الحشرات. لقد تركزت المجالات الرئيسية للبحث والدراسة حول الممرضات على الحشرات والتراكيب ذات الدوام على المدى الطويل والبادئات النباتية الداخلية المرضية endophytes. بعض من هذه الاتجاهات تتداخل مع طرق التفرقة فى الصناعة كما ذكر قبلا حيث أن الباسيلليس ثورينجينسيز تعتبر ممرض ضد الحشرات. لقد درست نواتج التمثيل الثانوية والبروتينات التى تنتج بواسطة ممرضات الحشرات باستفاضة (كما فى Claydon and Grove ١٩٨٢، Krasnoff, etal ١٩٦٦، Roberts ١٩٨١، Warren ١٩٩٧). لقد درست كذلك التراكيب ذات الدوام على المدى الطويل (عيش الغراب والاسكليروشيا التى تنتج بواسطة الفطريات) بنجاح كمركبات مضادة للحشرات. لقد كان المنطق يشير الى امكانيات استخدام أهم الانسجة من النباتات خاصة البذور كمصادر لهذه المواد الفعالة بيولوجيا.

بسبب تشابه التراكيب من المصادر المختلفة والتى اكتشفت من خلال الاقترابات المختلفة وبسبب المناقشات السابقة التى تناولت المركبات المضادة للحشرات من الكائنات المختلفة اتفق على تناول المعلوماتية عن هذه المركبات فى هذا المقام من خلال عمل مجاميع أولية ترتب أبجديا تبعا لتشابه التراكيب مع أقسام خاصة بالمركبات الناتجة من البكتريا والاكتينوما يسيتس والفطريات كمصادر للمركبات الثانوية. هذا ولو أن البيبتيدات الحلقية سوف تناقش بشكل منفصل. هذا النظام يقلل من التكرار فى حالة ما اذا كان نفس المركب/المركبات تنتج بواسطة كائنات متنوعة. بالاضافة الى ذلك فانه يحقق امكانية تمثيل كيفية احداث الفعل مع توفر بيانات العلاقة الكمية بين التركيب والفاعلية QSAR. كذلك فان المركبات التى تعمل فى ظل نظام التنشيط أو توجد فى مخاليط من نفس الكائنات سوف يلقى الضوء عليها بشكل منفصل.

← الألليلوكيميائيات المضادة للحشرات Antiinsectan allelochemicals:

يوجد العديد من الألليلوكيميائيات ذات أوزان جزيئية أقل من ١٠٠٠ أظهرت فاعلية ضد الحشرات. العديد من هذه المركبات أشتقت من الفطريات وأختبرت ضد دودة كيزان الذرة. السمية لهذه المركبات قدرت بنفس طريق التقييم عن طريق الفم Oral assay والتى تفاوتت من موت محسوس مع تركيز أقل من ١٠٠ جزء فى المليون وحتى الخفض القليل فى معدلات النمو مع تركيزات الاف من الاجزاء فى المليون. هذا ولو أن الفاعلية مع التركيزات العالية قد تكون وثيقة الصلة من الناحية البيولوجية للتركيز الذى وجد فى المادة المصدر. المستخلصات من الكائنات المنتجة مثل Amanita muscarina أستخدم كمركب قاتل للذباب منذ العصور الوسطى medieval times (Dickinson and Lucas ١٩٧٩).

المركبات المضادة للحشرات التى أشتقت من البكتريا غير الخيطية:

أحماض الكيل تترا هيدروفيوران Alkyltetrahydrofuran acids

المركب ٥- ن- هكسيل- تتراهيدروفيوران- ٢- أسيتيك أسيد عبارة عن مركب حيوى متحول أو مشتق الحامض من ١٢- هيدروكسى أوكتاديكانويك أسيد بواسطة بكتريا باسيلليس لينتس (Huang وأخرون ١٩٩٦). لقد اتضح أن هذا المركب له نشاط مشابه لهورمون الشباب ضد عذارى كاربوفيلس هيميبترس. حيث أحدث ١٥% أطوار وسيطة مشوهة من العذارى- الحشرة الكاملة بعد المعاملة بتركيز ٠,٢ ميكروليتر من محلول ١ ملليجرام/ ملليلتر من محلول الميثوبرين. هذا بينما أدت المعاملة بتركيز ٠,٢ مللجم من المادة النقية لحامض الكيل تتراهيدروفيوران الى انتاج ٨٠% من الاطوار الوسيطة من العذارى والحشرات الكاملة.

Amino levulinic (5- amino-4-pentanoic acid)

حامض 5-(δ)-amino levulinic ينتج بواسطة العديد من البكتريا الضوئية phototrophic مثل Anacystis nidulans, Anabaena variablis, Rbodobacter sphaeroides, R. plaustris وغيرها كما أن البكتريا ذات الاغتذاء الكيميائى Chemotrophic ومنها الهوائية مثل Pseudomonas riboflavina Propionibacterium shermanu, واللاهوائية مثل Methanosarcina barkeri, Methanobacterium theromoautotrophicum, تستطيع انتاجها. عندما أعطى المركب ٥- أمينوليفيولينيك أسيد لحشرة H. zea وغيرها بتركيز ٢٥٠ جزء فى المليون أحدث خفض فى النمو

١٤%. هذا المركب أظهر تنشيط لفعل المبيدات الحشرية من مجموعة Porphyric مثل الداى بيريديل.

$H_3C-(CH_2)_5-CH \quad CH-CH_2-C(=O)-OH$

5-*n*-hexyl tetrahydrofuran-2-acetic acid (5-HTFA)

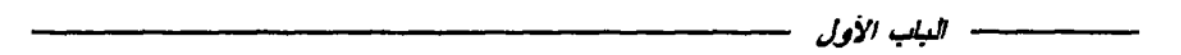
$$H_2N-CH_2COCH_2CH_2COOH$$

5-Amino Levulinic Acid

الديابروتيكينات Diabroticins:

لقد تم عزل الديابروتيكينات من مزارع بكتريا باسيلليس سبتيلس. لقد ظهرت فاعلية الديابروتيكينات A و B بمعدلات ٢-٤ ، ٢٥-٥٠ جزء فى المليون على التوالى ضد يرقات العمر الاول من حشرة ديابروتيكا انديسوم بنكتاتا (Stonard وآخرون ١٩٩٤).

Diabroticin A



✔ ثيوليوتين Thiolutin:

البكتريا التكافلية xenorhabdus sp. المرتبطة بالنيماتودا الممرضة للحشرات Steinernema وبعض الاكتينومايسيتس تنتج الثيوليوتين. المركب يقتل يرقات حشرة ليوسيليا يكاتا بمستويات غير محددة.

Thiolutin

✔ ثورنجينسين Thuringiensin (β-exotoxin):

المركب ينتج بواسطة باسيلليس ثورينجينسيز وهو فعال ضد الاكاروسات والحشرات فى رتب غمدية الاجنحة ونصفية وغشائية ومتساوية وحرشفية ومتساوية الاجنحة. المركب يؤثر على المراحل الاخيرة من تخليق الحامض النووى رنا RNA كما أن الصورة غير المفسفرة غير سامة نسبيا.

b-Exotoxin

✔ زينورابدينات Xenorhabdins

لقد تم عزل الزينورابدينات من البكتريا التكافلية xenorhabdus spp التى تحدث مع النيماتودا الممرضة للحشرات Ste.:ernema.

Xenorhabdin 1

✍ المركبات المضادة للحشرات المشتقة من الاكتينومايسيتس:

✍ المضادات الحيوية العامة General antibiotics

لقد نشرت العديد من الدراسات المرجعية عن تأثيرات المضادات الحيوية التى تنتج بواسطة ستربتو مايسيتس على الحشرات. اختبارات المضادات الحيوية ضد الحشرات تجرى منذ عام ١٩٤٥. من بين المضادات التى اختبرت على الانواع المختلفة من الحشرات ما هو موصف فى الجدول التالى حيث ثبت أن أكثرها فعالية هو أكتينومايسين A ، سيكلوهيكسيميد ، نوفوبيوسين ولو أن الفعالية متفاوتة. لقد وجد أن النوفوبيوسين والاكتينوماسين A تثبط تخليق البروتين

Cycloheximide

Actinomycin A

Novobiocin

جدول يوضح السمية العامة للمضادات الحيوية على الحشرات

المركب Compound	حرشفية الاجنحة Lepidoptera	متجانسة الاجنحة Homoptera	غمدية الاجنحة Coleoptera	متساوية الاجنحة Orthoptera	الاكاروس الأجنحة Mites
amphotericin	L	L	-	-	M.H
ampicillin	-	L	-	-	M
anisomycin	-	-	-	L	-
anthelmycin	-	M	-	-	H
Antimycin A	L	L	M	L.H	M
actinobolin	-	-	-	-	L
bacitracin	L	-	-	L	L
brevicidin	-	L	-	-	-
cadidicin	-L	-	-	L	
chloramphenicol	M	-	-	-	-
chloromycetin	-	L	-	-	M
chlortetracycline	-	-	H	-	-
cytovirin	L	L.M.H	-	-	H
cycloheximide	L.H	L.M	-	-	H
erythromycin	L	-	-	-	M
flavensomycin	-	-	-	M	-
fumagillin	L	L	-	-	-
fungichromin	L	L	-	-	-
furacin	-	-	-	L	-
griseoviridin	L	-	-	-	L
hygromycin	L	L.H	-	-	-
kanamycin	L	L	-	-	M
mitomycin	-	M	-	-	M
nemoycin	L	-	-	M.H	M
novobiocin	H	L.M.H	-	-	H
nybomycin	-L.M	-	-	-	
nystatin	-	-	-	L	M
oleandromycin	-	M	-	-	M
pactamycin	-	L	-	L	H
penicillin	L	L	-	-	-
oxytetracycli ne	-	L.M	L.M	-	L
phleomycin	L	-	-	-	-
phytoactin	M	L	-	-	M
polymixin	-	-	-	L.H	M
puromycin	-	L	-	-	H
ristocetin	L	-	-	-	-
sarkomycin	-	L	-	-	M
streptomycin	-	-	L.M	M	-
streptovitacin	L	L.M.H	-	-	M
terramycin	-	-	-	L.M	L
thipyrametin	-	-	-	L	-
Trisulfamic	-	-	-	L	-
Tylosin	L	-	-	-	L
Tyrothricin	L	-	-	-	L
vancomycin	L	-	-	-	L
Viomycin	-	-	-	L	-
viridogrisein	-	L	-	-	L
Ventunicidin	M	-	-	-	-
xanthomycin	-	-	-	H	-

L= قليلة   M= متوسطة   H= عالية

L= low, M= moderate, H= high; relative to other compounds tested on the same species. Multiple entries indicate information on multiple species. Modified from Huang and Shapiro (1971). Most structures are available in Glsby (1976).

المضاد الحيوي A 204 A

المركب من النوع بولى أثير يرتبط بالمونسين monensin وهوينتج بواسطة ستربتومايسيس الفس حيث يحدث ١٠٠%موت فى حشرة من القطن بتركيز ١٠٠٠جزء فى المليون عند الرش قميا

Antibiotic A204A

إل- الانوسين L-alanosine

المركب ال- الانوسين ذات التركيب الـ -٢- أمينو- ٣ (هيدروكسى نيتروساميتو)- بروبيونيك أسيد تم عزله من أنواع مختلفة من الاستربتومايبس مثل S. alanosinicus. عندما يضاف المركب للغذاء يثبط التخلص من كبسولة الرأس فى ٥٠% من يرقات حشرة ليوسينا سيبيراتا.

$$O{=}N{-}N(OH){-}CH_2{-}CH(NH_2){-}COOH$$

اللوساميدين Allosamidin

لقد تم عزل المركب من أنواع ستربتومايسيس. المركب يثبط انزيم كيتينيز فى دودة الحرير.

المضاد الحيوي Antibiotic B-41

المركب عبارة عن لاكتون حلقي (براءة اختراع في أمريكا رقم 3,984,563) دون فاعلية موصفة على الحشرات والاكاروسات

Antibiotic B41

أبلاسموماسين Aplasmomycin

المركب ينتج بواسطة ستربتومايسيس جريبس. يسبب المركب ١٠٠% موت في العنكبوت T. urtieae بتركيز ١٠٠ جزء في المليون

المركبات العطرية للنيترو

لقد عزلت هذه المركبات فى ستربتومايسيس جريسيس الصنف أوتوتروفيكس وقد أحدث موت ١٠٠% ليرقات بعوض الايـــدس عند تركيز ٦,٢٥ جزء فى المليون.

أفيرميكتينات Avermectins

لقد عزلت فى الاساس من ستربتومايسيس أفيرميتيلس. الصور التجارية تشمل أفيرمكتين ivermectin (٢٢, ٢٣- ديميدروأفيرمكتين B_1) لآفات الدواجن والمواشى وكذلك أبامكتين abamectin (٨٠% أفيرمكتين B1: ٢٠% أفيرمكتين Bib) لآفات البساتين. لقد سجلت اختلافات كبيرة فى الفاعلية حتى بين الحشرات القريبة. لقد وجد أن الاختلافات فى السهمية ترجع الى الاختلافات فى مستقبلات الجابا GABA receptors حيث كانت المعايير الاخرى مثل النفاذية والتمثيل متشابهة. التأثيرات تحت القاتلة شملت عدم امتداد الكيوتيكل ولم يتأكد حدوث تأثيرات مانعة للتغذية. لقد تأكدت العلاقة بين التركيب والفاعلية. الافيرميكتين يرتبط بشكل متخصص ببروتينات قناة الكلوريد المختلفة لانتاج أيون الكلوريد المتحرك فى الخلايا العصبية مما يؤدى الى شلل لا شفاء منه.

لقد سجلت حالات مقاومة للأبامكتين فى حشرة L. decemlineata يشترك فيها انزيمات الاكسدة والتحلل المائى.

Avermectin B_{1a}

✓ ايوريوثين Aureothin

المركب ينتج بواسطة ستربتومايسيس ثيولوتينس. لقد أحدثت جرعة ١ ميكروجرام موت ٧٥%من أبى دقيق الكرنب. عندما رش المركب بمعدل (٦٠ميكروجرام / مللي لتر) محلول حدث موت ٩٥% في العنكبوت الأحمر تترانيكس كانازاوا.

Aureothin

✓ بافيلومايسينات Bafilomycins

المركبات تنتج بواسطة ستربتومايسيس جراسيس. المعاملة بتركيز ١٠٠٠جزء فى المليون مع الغذاء أظهرت فاعلية ضد ذبابة الفاكهة. المركب بافيلومايسين A_1 يحدث خلل فى تكوين حامض الدنا فى الدروسوفيلا عن طريق تثبيط انزيم ATP ase المشترك فى التنظيم الايونى

Bafilomycin

✓ سيتromycin سيترومايسين Citromycin

المركب ينتج بواسطة S. hygroscopicus. عندما تغذت الذباب والصراصير على تركيز ٥٠٠ جزء فى المليون أحدثت المركب ٣٠، ٥٠%موت على التوالى. السمية قد ترجع الى التأثير على أنيبات ملبيجى فى الحشرات.

Citromycin

⇙ كونكانا ميسينات Concanamycins

المركبات تنتج بواسطة S. diastatochromogens. المركب فعال ضد أنواع عديدة من الحشرات. المركب كونكامسيين A يثبط انزيم ATP ase من خلايا الدخان كذلك قد يعمل كما فى البافيلوميسينات على تنظيم الايونات فى أنيبات ملبيجى فى الحشرات.

Concanamycin A

✓ ديوكسا بيرولومايسين Dioxapyrrolomycin

لقد تم عزل المركب بداية من S. fumanus ووجد فعال ضد العديد من أنواع الحشرات والاكاروسات. بالرغم من أن المركب له سمية غير مرغوبة على الفقاريات الا أنه يعتبر مركب رائد التركيب للحصول على بعض المشتقات الفعالة. المركب يحدث الفعل عن طريق عدم ازدواج الفسفرة التأكسدية.

Dioxapyrrolomycin

✓ الفيريفيوجينات Faeriefungins

لقد عزلت فى S. griseus من الصنف var. autotrophicus وهى فى العادة خليط فى مركبين يختلفا فى وجود أو غياب مجموعة ميثيل. المخلوط B,A أحدث موت ١٠٠% فى يرقات بعوض الابيديس ايجيبتى.

✓ جريزيولين Griseulin

المركب ينتج بواسطة S. griseus من الصنف أوتوتروفيكس وهو فعال ضد البعوض

✓ ليوكانيسيدين Leucanicidin

المركب ينتج بواسطة S. halstedii ويحدث ١٠٠% قتل ليرقات L. separate بعد ٤ أيام من المعاملة بتركيز ٢٠جزء فى المليون

✓ ميلبيميسينات Milbemycins

الميلبيميسينات عبارة عن مركبات macrolide عزلت فى الاستربتومايسيس مثل S. hygroscopicus تحت النوع aureolacrimosus. سلاسل الالفا تحتوى على حلقة تتراهيدروفيوران ولكن سلاسل البيتا لا تحتوى على هذه الحلقة مع سلاسل ١٠- ألفا وسلاسل 5-B. المركبات فعالة ضد الاكاروسات. المركبات تحدث الفعل على غرار الافيرمكتينات عن طريق فتح قناة الكلوريد.

✓ نيكومايسين Nikkomycins

المركب عزل من ستربتومايسيس تندى S. tendae وهى مركبات مثبطات فعالة لانزيم سينيز الكيتين ولو أن هذا الانزيم فى حشرة هيالوفورا سيكروبيا لم يتأثر نسبيا بالمقارنة بانزيم T. ni

$$HO-C_5H_3N-CH(OH)-CH(CH_3)-CH(NH_2)-C(=O)-NH-CH(COOH)-[\text{ring}](OH)(OH)\sim Uracil$$

⇙ أوكسوهجروليدين Oxohugrolidin

المركب ينتج بواسطة S. hygroscopicus. عندما أضيفت ١٠٠٠جزء فى المليون للغذاء لم تلاحظ فاعلية واضحة ضد حشرة ذبابة الفاكهة وغيرها.

⇙ البيريسيدينات Piericidins

تنتج بواسطة ستربتومايسيس مابارانيسيس S. mabaraensis. لقد عرف أن البيريسيدين B,A سامة للعديد من أنواع الحشرات. لقد عرف تشاكل البيريسميدين A للمرافق الانزيمى Q.يتفاعل البيريسمبيدين مع DPNH (NADPH) وهيدروجينيز عند موقع قد يكون هو نفسه كما فى الروتينون كما يثبط انزيم سكسينيك دهيدروجينيز من خلال التنافس على المرافق الانزيمى Q كموقع ارتباط. هناك أمثلة عديدة تشير الى البيريسيدين يثبط نظام نقل الالكترون فى الميتوكوندريا بما فيها الحشرات.

⇙ راسيمومايسينات Racemomycins

تنتج هذه المركبات بواسطة ستربتومايسيس لافينديولا S. lavendulae. الفاعلية ضد الحشرات تزداد مع زيادة أعداد بقايا البيتا-لايسين ولو أن غياب حلقة ستروبتولينيدين يقلل بشكل كبير من الفاعلية ضد الحشرات. عند تناول المركب بواسطة

الذباب المنزلي بجرعة ١٠٠٠جزء في المليون حدث موت ٣٠، ٥٠، ٨% بعد ٤٨ ساعة مع راسيمومايسين C, B, A على التوالي.

Racemomycin A

↙ روداپلوتين Rhodaplutin

ينتج المركب بواسطة Noardioides albus. عندما أضيف المركب مع الغذاء بمعدل ٤٠٠ جزء في المليون لم يسبب نشاط موصف ضد العديد من الحشرات مثل الدروسوفيللا ومن الخوخ والاكاروس.

Rodaplutin

↙ سبينوسينات Spinosyns

هذه المركبات متاحة تجاريا وقد عزلت في البداية من الاكتينومايسيت Saccharopolyspora spinosa. تنتج صور عديدة في بيئة التخمر ولكن الاكثر شيوعا هي سبينوسين D,A ذات ٠,٣، ٠,٨ جزء في المليون كتركيز نصفي قاتل على التوالي ضد يرقات دودة اللوز الامريكية. لقد لوحظت فاعلية كبيرة ضد حشرات نصفية وغشائية الاجنحة وغيرها وهي ضعيفة الفاعلية ضد المن والنيماتودا. وجود أو غياب

مجموعة ميثيل فردية فى أى موضع نقلل من النشاط ضد دودة اللوز الشوكية بحوالى ٢٠٠ مرة. سبينوسينات تسبب نشاط ثابت فى مستقبلات نيوتينيك أسيتيك كولين وتغير من وظيفة قنوات الكلوريد لأبواب الجابا. سبينوسينات فعال على نسق البيرثريودز المخلقة ضد حشرات حرشفية الاجنحة.

Spinosyn A

تترانكتين Tetranactin

ينتج بواسطة ستروبتومايسيس أوريس S. aureus وهو فعال ضد الاكاروسات وقليل الفاعلية ضد يرقات البعوض. خليط ديناكتين والتراى نكتين والتترانكتين يحدث ٨٤,٨%موت عند معدل ١ ميكروجرام/حشرة C. chinensis. المركب يعمل على عدم ازدواج الفسفرة التأكسدية كما فى ميتوكوندريا الصرصور

Tetranactin

ثيوليوتين Thiolutin

ينتج بواسطة ستربتومايسيس البس، ستربتومايبس سيللوفلافس والبكتريا زينورابدس. التركيز النصفى القاتل على يرقات L. serieata تساوى ٣٢ جزء فى المليون.

فالينومايسين Valinomycin

ينتج المركب بواسطة S. flavissimus، S. roseuchromogenes، S. griseus.
لم يظهر المركب فاعلية على الذباب المنزلى عندما عومل قميا ولكن كان شديد الفاعلية عندما حقن فى الذكور والاناث حيث وصلت الجرعة النصفية القاتلة ٠,٠٢ ، ٠,٠٣ ميكروجرام/ ذبابة على التوالى. عند التركيزات غير القاتلة يسبب فالينومايسين عدم انتظام فى ضربات القلب فى الصرصور الامريكى، الكالينومايسين محب للأيونات ذات اختيارية عالية لأيونات البوتاسيوم مما يجعلها تتحرك عبر أغشية الليبيدات ومن ثم يتداخل مع النقل النشط.

D-Val ---- L-Lac ---- L-Val ---- D-Hyv ---- D-Val ---- L-Lac
↑ **Valinomycin** ↑
D-Hyv ---- L-Val ---- L-Lac ---- D-Val ---- D-Hyv ---- L-Val

المركبات المضادة للحشرات المشتقة من الفطريات

الفينوليكات Phenolics

يوجد العديد من الفطريات تنتج مركبات الفينوليكات كتلك التى تحدث فى النباتات الراقية. هذه المركبات تشمل حامض فيروليك (ينتج بواسطة فطر الريزوكتونيا) وحامض السيناميك والمثيلسينامات (ينتج بواسطة الفيوزاريوم والبنسيليوم والريزوكتونيا والللينتينس والايوروتيوم) وحامض البنزويك ومشتقاته (تنتج بواسطة أسبرجيلس، أيوروتيوم، لامبرتيللا، بنسيليوم، بولى بورس، لينتينس) وحامض الفانيليك (ينتج بواسطة ريزوكتونيا ليجيو مينيكولا وريزوكتونيا سولانى) وحامض الكوماريك (ريزوكتونيا، أيرونيوم).

COOH, OCH3, OH
Vanillic Acid

CH=CHC(=O)—OH
Cinnamic Acid

CH=CHC(=O)—OH, OCH3, OH
Ferulic Acid

$$HO-C_6H_4-CH=CHC(=O)-OH$$

⇙ بولى (أسيتيل) أستيلينات **poly(acetyl)enes**

البولى أستيلينات تنتج بواسطة أنواع عديدة من الفطريات ومعظمها مكونات عيش الغراب. الفطريات التى تنتج البولى أستيلينات تشمل .Agrocybe Camorophyllus, Clitocybe, Collybia, Coprinus, Daedalea, Drosophila, Fistulina, Fomes, Gymnophilus, Hydnum, Kuehneromyces, Pemophora, Pleurotus, Polyporus, Psilocybe, Ramaria, Resinicium, Russula, Serpula, Stereum, البولى أستيلينات التى تنتج بواسطة هذه الفطريات تكون ذات ٩ أو ١٠ ذرات كربون (فى مقابل ١٣ ذرة كربون فى النباتات) وقد تكون متماثلة أو مشابهات لتلك المشتقة من النباتات. البولى أستيلينات تنشط ضوئيا وتلك المشتقة من النباتات سامة على الحشرات.

$$CH_3CH{=\!=}CH\{C{\equiv}C\}_2CH{=\!=}CHCO_2H$$

Polyacetylene

⇙ تربينويدز **Terpenoids**

العديد من أنواع الفطريات تنتج التربينويدز على نفس المنوال كما فى النباتات الراقية. الجيرانيول ومشتقاتة تنتج بواسطة Ceratoeystis spp و Trichothecium spp أما اللينالول ينتج بواسطة Agaricus, Lactarius, Phellinus and Trichothecium spp, كما أن الألفا والبيتا بينين تنتج بواسطة Boletus, Ceratocystis Cronartium fusiforme, أما الليمونين ينتج بواسطة Conartium fusiforme هذه المركبات فعالة ضد العديد من أنواع الحشرات.

OH

Linalool

CH_2OH

Geraniol



✓ أفلاتوكسينات Aflatoxins

بداية تقوم فطريات أسبرجلس فلافس، أسبرجلس باراسيتيكس بانتاج الأفلاتوكسينات. لقد تم دراسة فاعلية هذه المركبات على الحشرات. أظهرت نواتج التمثيل الاولى فى مسار التخليق الحيوى للأفلاتوكسين سمية أقل على العمر اليرقى الاول لحشرة أوسترينيا نوبيلاليس. الأفلاتوكسين بمعدل ١٠٠٠ جزء فى المليون أحدث ١٠٠% موت بينما سبب Sterigmatocystin بمعدل ٦٠٠٠٠ جزء فى المليون ٤٥% موت بينما سبب Versicolorin، averufin، حامض norsorlinic لم تظهر اية فاعلية بتركيز ٦٠٠٠٠ جزء فى المليون.

Aflatoxin B$_1$

لوحظ تناسل شاذ فى الحشرات التى تناولت مستويات غير قاتلة من هذه المواد. الأفلاتوكسينات تنشط انزيميا الى الايبوكسيد الذى يتفاعل مع بقايا الجوانيدين فى الحامض النووى DNA والذى يتحول الى فورماميدوبيرميد. هذا الشذوذ فى الحمض "الدنا" يسبب أخطاء خلال النسخ. عند اعطاء المركب عن طريق الفم أظهرت بعض الحشرات مثل الذباب والديدان حساسية عالية بينما البعض الاخر مثل

الصراصير أظهرت مقاومة. الدراسات على مبايض الذباب المنزلى أظهرت تداخل مع DNA وتخليق r RNA. أظهرت دراسات أخرى على حشرة H. zea فى المعى الاوسط تحول أولى للأفلاتوكسين B_1 الى صور أخرى B أو G ذات نفس السمية. توجد جينات عديدة تشترك فى مقاومة السلالات المختلفة من الدروسوفيللا ولكن ميكانيكية هذه الظاهرة ما زالت غير معروفة.

أفلاتريمات Aflaterms

لقد تم عزل هذه المركبات من فطر أسبرجلس فلافس، أسبرجلس باراسيتيكس، أسبرجلس سباوليفيبس سكلوروشيا. لم يظهر هذا المركب فاعلية عند ١٠٠ جزء فى المليون ضد اليرقات والخنافس. المركب المرتبط B. aflaterem عزل كذلك من أسبرجلس فلافس سكليروشيا.

β-aflatrem

أفلافانينات Aflavanines

الأفلافانين والديهيدروكسى أفلافانين عزلت من أسبرجلس فلافيس بما فيها الاجسام الحجرية للاسبرجلس فلافس. عند ٢٥ جزء فى المليون أحدث ديهيدروكسى أفلانين ٣٣ ، ٣٥,٥% نقص فى النمو فى دودة اللوز الامريكية و S.frugiperda على التوالى. لقد كانت المشتقات الاخرى غير فعالة ضد الحشرات. لقد تم عزل ثلاثة أفلافانينات جديدة من الاجسام الحجرية للاسبرجلس توبينجينسيز الصورة الكيتونية هى الوحيدة الفعالة حيث أحدثت ٦٨% خفض فى النمو، ٣٨% خفض فى الخصوبة فى يرقات دودة اللوز الامريكية و C. hemipterus على التوالى

Dihydroxyaflavanine

Aflavazole أفلافازول

تم عزل هذا المركب من سكليروشيا الاسبرجلس فلافس حيث سبب ٧٥، ٦٢,٥% خفض فى تطور يرقات والحشرات الكاملة C. hemipterus على التوالى.

Arenarins أرينارينات

لقد عزات هذه المركبات من سكليروشيا أسبرجلس أريناريس. لقد أحدث الأريناريرن A ١٣% خفض فى النمو للحشرات الكاملة من C. hemipterus أما الارينانينات B، C أحدثت ٢٠، ١٣% خفض مع تركيز ١٠٠ جزء فى المليون على الحشرات الكاملة على التوالى.

Arenarin A

Asperentin أسبرنتين

تقوم فطريات أسبرجلس وكلادوسبوريوم وايروتيوم بانتاج اسبرينتين ومشتقاته.

Asperentin

Aspernomine أسبيرنومين

لقد تم عزل هذا المركب من سكليروشيا الفطر اسبرجلس نوميس وهو فعال ضد يرقات دودة الذرة الاوروبية بمعدل ٢٥ جزء فى المليون.

Aspernomine

Aurasperones and fonsecinones أوراسبيرونات وفونسيسينات

يتم انتاج هذه المركبات بواسطة أنواع مختلفة من الاسبرجلس. تحدث المركبات تثبيط فى نشاط انزيمات NADH أكسيديز فى دودة الذرة الاوروبية وغيرها.

Aurasperone A

↙ أزوكسى بنزينات Azoxybenzenes

الازوكسى بنزينات The azoxybenzenes 4'-hydroxymethylazoxybenzene-4- carboxylic acid, and azoxybe zene-4.4"- dicarboxylic acid عزلت فى السلالة الممرضة للحشرات فى الفطر Entomophthora virulena. عندما استخدم ٢,٥ ميكروجرام فى حامض الايدروكسى حقنا فى حشرات C. vicina البالغة حدث موت ٧٧,٥% خلال ٧٢ ساعة وعند جرعة ٢,٧ ميكروجرام لكل ذبابة كان الحامض الثنائى diacid غير فعال

Azoxybenzene Derivative

↙ مشتقات بينافثالين Binaphthalene derivative

لقد تم عزل هذه المشتقات من فطريات نباتية داخلية غير معروفة فى شجرة اللاركس الشرقية larch (Larix laricina) وقد وجدت سامة لدودة البراعم حيث أحدثت ٩,٦% موت مع تركيز ٤٠٠ جزء المليون.

Binaphthalenyl Derivative

↙ بريفيانا ميدات Brevianamides

المركبات تنتج بواسطة الفطريات Penicillium brevicompactumand Penicillium expansum

Brevianamide

Carbonarins كاربوناربنات

لقد تم عزل العديد من الكاربوزينات من سكليروشيا اسبرجلس كاربوناروم ووجدت فعالة ضد الحشرات. هذه المركبات ذات مقدرة على تثبيط NADH اكسيديز

Carbonarin

Cerebrosides سيريبروسيدات

تم عزل هذه المركبات في Schizophyllum commune (Mizuno, 1995) و Pachybasium (= Trichoderma) sp. والطفيل النباتي Humicola fuscoatra (Wicklow etal. 1998)

Cerebroside D

Chaetoglobosins شيتوجلوبوسينا

لقد تم عزل هذه المركبات من Chaetomium spp. Penicillium aurantio-virens و Diplodia macrospora

Chaetoglobosin C

Chromenes كرومينات

الكرومينات على غرار البريكوسينات عزلت من Laetarius fuliginosus و L. picinus وقد توجد فى L. fumosus وهى فعالة ضد بعض الحشرات. لقد لوحظت تفاعلات موجبة للكرومين عندما تم فصلها بالكروماتوجرافى TLC ولكن لم يمكن عزل المركبات النقية.

Lactarius Chromene

Citrinin سيترينين

لقد تم عزل هذا المركب فى crotalaria crispata والعديد من أنواع البنسيليوم السيترنين بتركيز ١٠٠٠ جزء فى المليون أحدث خفض فى نمو الحشرات من ٦-٤٠%. أنيبات ملبيجى فى الحشرات والتى تقارن مع كل الفقاريات تعتبر هدف الستريـنين. لقد وجد أن السيترينين يثبط تخليق الكوليسترول فى الفئران وقد تكون الميكانيكية ممكنة الحدوث فى الحشرات.

Citrinin

Clitocine كليتوسين

ينتج بواسطة عش الغراب Clitocybe inversa وليس له فعل متخصص ضد دودة اللوز القرنفلية

Clitocine

Cordycepin كوردسيبين

الكورد سيبيدين (٣ – ديوكسى أدينوسين) ينتج بواسطة الفطر الممرض للحشرات Cordyceps miliaris و اسبرجلس نيتيولانس. المركب فعال ضد دودة الشمع.

Cordycepin

Culmorin كلمورين

المركب ينتج بواسطة فيوزاريوم كالموريوم، F. nivale، F. graminearum

Culmorin

Cyclopenol سيكلوبينول

ينتج بواسطة العديد من البنسيليوم

Cyclopenol

☑ حامض سيكلوبيازوونيك Cyclopiazonic acid

ينتج بواسطة أنواع مختلفة من فطريات بسيليوم وأسبرجلس. الفاعلية قد ترجع الى التداخل فى تنظيم الضغط الايدروستاتيكى كما فى حالة مركب روتيامبد. الهدف على المستوى الخلوى انزيم ATP ase الناقل للكالسيوم فى الشبكة الاندوبلازمية. هذا دعا الى الاقتراح بأن ATP- ase فى أنيبات ملبيجى تتأثر مما يعير من تنظيم الماء كما هو الحال مع الباقيلومايسين.

Cyclopiazonic Acid

☑ سيتوكالسينات Cytochalasins

تنتج بواسطة أنواع عديدة من الفطريات Aspergillus clavatus A. terreus. Chalara microspora. Helminthosporium dematioideum, Metarrhizium anisoplia. Phomopsis spp., Rosellinia necatrix, and Zynosporium masonu المركبات تثبط نقل السكر عبر الاغشية.

Chaetochalasin

Cytochalasin H

☑ ديندروشين Dendrochin

ينتج بواسطة Dendrodochium foxicum ويسبب ٤١% موت ضد دودة الشمع. الديندروشين يزيد من قطر أنيبات مبليجى فى يرقات الحشرة.

Dendrodochin A

Dermocybin ديرموسيبين

تم عزل المركب من أنواع مختلفة من Dermocybin. المركب يثبط تحول اليرقة فى الدروسوفيللا الى عذراء بمعدل ٧٢% عند ٣٥٠ جزء فى المليون.

Dermocybin

E-64 and related thiol protease inhibitors إي- ٦٤ ومثبطات الثيول بروتييز

المركب E-64 (L-trans-epoxysuccinyl-leucylamino-(4-guanidino)-butrane) عزل فى أسبرجلس جابونيكس. المركبات المرتبطة استاتينات B,A Estatins عزلت من Myceliogthora thermophila أما مركبات Cathestatins B,A عزلت من بنسيليوم سترينيوم وثم عزل مركبات AM 4299 B,A من كروميلوسبوريوم فلفوم. لقد استخدم المركب E-64 فى داخل الحشرة فى بعض الحالات لتوصيف نشاط بروتييز معدة الحشرات. عندما أضيف المركب E-64 لغذاء خنفساء كالوسوبروكس ماكولاتس أحدث موت ٤٣% وسبب خفض فى مدة بقاء الحشرة وخفض من نسبة تحول العذارى الى حشرات كاملة.

E-64

↙ مركبات إيشيليونات **Echinulins**

تنتج هذه المركبات بواسطة فطريات اسبرجلس ومنها A. ochraceus. الأيزو إيشيفولين A يثبط نمو دودة الحرير بدرجة غير موصفة عند معدل ١٠٠٠ جزء فى المليون.

Cycloechinulin

Isoechinulin A

↙ إيمودين **Emodin**

عزل من أنواع عديدة من الفطريات تشمل.Acroscyphus sphacrophoroides و A. aculeatus. Aspergillus wentii. Eurotium. Hypocrea. Nephoroma, Penicillium. Phoma. و Pyrenochaeta. Talaromyces. و Cetraria.cucullata. Drechsleera sp., و Xanthoria المركب يحدث ٤٦,٧% موت عند معدل ٤٥ جزء في المليون على الدروسوفيلا كما يخفض من التحول الى طور العذراء.

Emodin

Epiamauromines أبيبوروومينات ✔

هذه المشتقات تنتج بواسطة الفطر اسبرجلس أوكراسيئوس A. ochraceous.
الايبيميوروومين و ن – ميثيل ايبيمورين يحدثا ٣٠ ، ١٧% خفض فى النمو فى يرقات دودة اللوز الامريكية على التوالى. التركيب قريب من مركب أموروجين المعزول من الفطر Amauroascus وهو Vasodilator

N-Methylepiamauromine

Ergovaline إرجوفالين ✔

يبدو أن المركب ارجوفالين ينتج بواسطة الفطر الداخلى Acremonium lolii/ arundinacea وهو المسئول عن النشاط ضد الحشرات. الارجوفالينات لها ميل عالى لمواقع الارتباط ٥– هيدروكسى تربتامين وقد يكونْ له ميل عالى كذلك لمواقع الارتباط الادرينالية والدوبانية dopanergic.

Ergovaline

Eugenetin ايوجينيتين ✔

الفطريات .Cylindrocarpon sp والاسبرجلس تنتج الايوجينين. التأثيرات غير القاتلة تشمل مناطق بدون صبغة فى الكيوتيكل وهذا قد يرجع للتداخل مع التانينات.

Eugenetin

↙ فيوزارينتينات **Fusarentins**

تم عزل هذه المركبات من السلالة الممرضة للحشرات من الفطر فيوزاريوم لارفارو Fusarium larvaru. المركبات فيوزارنتيت-٦- ميثيل إثير (١٠ ميكروجرام) والفيوزارينتين ٦ دا ميثيل إثير (٧ ميكروجرام) أحدثت ٣٠% موت بعد ٣ أيام.

Fusarentin Derivative

↙ حامض فيوزاريك **Fusaric acid**

ينتج بواسطة العديد من أنواع الفيوزاريوم. عندما حقنت ٢٠ ميكروجرام في حشرات C. vicina حدث موت ٧٠% بعد ٣ أيام. المركب ذات أهمية أكبر كمنشط في التكوين المرافق للمركب.

Fusaric Acid

↙ جريزيوفيولين **Griseofulvin**

لقد تم عزل المركب من العديد من أنواع فطريات البنسيليوم بما فيها سكليروشيا P. raistrickii. المركب القريب ٦- ديسل ميثيل جريزيوفولفين عزل كذلك من سكليروشيا P. raistrici. المركب يتداخل مع انقسام الخلية في Antheraea poly-phen. لا يوجد ما يدل على أن المركب يتداخل مع تخليق البروفيرن في الحشرات.

يبدو أن المركب يتأكسد فى البداية بواسطة انزيمات الاكسدة فى حشرة S. frugiperda ودودة اللوز الامريكية.

Griseofulvin

↙ Heptelidic acid هيبتيليديك أسيد

الهيبتيليديك أسيد ومشتقاته تنتج بواسطة Anthostoma avocetta, Chaetomium globo-sum, Glidocladium virens, Trichoderma viridae. حامض هيبتيليديك (٢,٢ميكرومول) وهيدروهيبتيليديك (١٦,٨ميكرومول) وهيبتيليديك أسيد كلوروهيدرين (٤,٧ميكرومول) أحدثت قتل ٧٨ ، ٨٨ ، ١٠٠% فى حشرة C. fumiferana بعد اسبوعين عندما اضيفت مع الغذاء.

Heptelidic Acid

↙ Hexenylbenzofurans هكسينيل بنزوفيوران

المركبان Two hexenylbenzofurans [5-hydroxy-2-(1'-oxo-5'methyl-4'-hexenyl)benzofuran and 5-hydroxy-2-(1'-hydroxy-5'-methyl-4'-hexenyl) benzofuran] عزلا من فطريات داخلية غير معرفة من نجيل الشتاء Caultheria procumbens. المركب الاول أحدث ٣٦%موت فى حشرة كريستنيورا فيوميفيرانا.

🙰 مشتقات الهيدروكينون Hydroquinone derivatives

المركب ٢- ميثيل هيدروكينون ينتج في بنسيليوم يورتيسيا، نكتاريا أريوبسينس، وأنواع الفوما، Scropulariopsis brumptii. المركب فعال ضد يرقات O. nubilais.

OH

CH_3

2-Methyl-hydroquin

OH

🙰 أيزوايبكسيدونات Isoepoxydons

الايزوايبدكسيدون عزل من بنسيليوم يورتيسيا وبورونيا بنكتاتا. المركب فعال ضد حشرة H. zea في مدى ١٠٠٠ جزء في المليون.

O

$HOCH_2$

O

(+)-Isoepoxydon

OH

🙰 أيزوبيماراتراينات Isopimaratrienes

لقد تم عزل مركبين داى تربيونيد أيزوبيماراترينات من فطريات داخلية غير معرفة من balsam fir. هذين المركبين حققا ٤٤% موت مع حشرة C. fumiferana عند تركيز ٦ ميكرومول عندما أضيفت مع الغذاء.

CH_3

O

CH_3

OH

O

O

H

H_3C CH_3

Isopimaratriene Derivative

↙ حامض كوجيك Kojic acid

ينتج بواسطة العديد من أنواع الاسبرجلس والبنسيليوم. يسبب الموت ويؤخر نمو حوريات حشرة Oncopletus fasciatus. حامض الكوجيك أكثر أهمية كمثبط للانزيمات metalloenzymes بما يسمح بالتداخل تنشيطيا مع نواتج التمثيل المرافق ويثبط انزيمات الدفاع فى الحشرات و النباتات.

O
HO
O
CH_2OH

↙ الكوتانينات والمركبات المرتبطة Kotanins and related compounds

الكوتانينات والايزوكوتانينات عزلت فى سكليروشيا اسبرجلس الياسيس. لقد سبق عزل الكيوتانين والديس ميثيل كوتانين فى A. glaucus و A. flavus. الكوتانين غير فعال ضد H. zea ولكن يحدث خفض فى نمو حشرة C. hemipterus عند معدل ١٠٠٠ جزء فى المليون مقداره ٢٣%. الديس ميثيل كوتانين غير فعال على هاتين الحشرتين. الايزوكوتانين C,B يخفض النمو بدرجات متفاوتة ونفس الحال مع الايزوكوتانين A. الكوتانين يثبط NADH أكسيديز

OCH_3
O O
CH_3 OCH_3
Isokotanin
OCH_3 CH_3
O O
CH_3O

المركب مرتبط عن قرب هو أفلافارين ثم عزله فى سكليروشيا A. flavus

CH_3 OCH_3
CH_3O O C
CH_3O O
O
HOCH₂
OCH_3

Lactarans لاكتارانس

لاكتاروروفينات عزل من Lactarius rufus. مدى الفعالية تم ترتيبه تنازليا كما يلي: لاكتارورفين A، B أيزولاكتاروروفين على حشرة T. confusum. خليط المونوهيدروكسى لاكتونات من L. necatro أحدث فعل مضاد للتغذية في هذه الحشرة. أوضحت الدراسات أن الاكتارينات والماراسمانات أكثر فاعلية من الايزو لاكتارنات. القليل من مجاميع الايدروكسيل تحقق فاعلية فى الايزو لاكتارنات. القليل من مجاميع الايدروكسيل تحقق فاعلية أكثر للفيوران ولم يثبت تأثير ثابت مع اللاكتونات. المركبات ذات ٨ ذرات كربون أكثر فاعلية.

Lactarorufin A

Leporin A ليبورين A

لقد تم عزل المركب من اسبرجلس ليبوريس وهو فعال ضد H. zea عند ٢٥ جزء فى المليون

Leporin A

Moniliformin مونيليفورمين

ينتج بواسطة العديد من فطريات الفيوزاريوم.

Macrophorins ماكروفورينات

تم عزل هذه المركبات من أنواع .Macrophora sp والبنسيليوم بريفى – كومباكتوم. مشتق الماكروفورين عزل فى الاسكوستروماتا Eupenicillium crustaceum و E. molle. المركب يخفض نمو الحشرات المعاملة عند تركيز جزء فى المليون.

Marasmanes مارسامانيات

لقد تم عزل هذه المركبات من أنواع عيش الغراب Lactarius ، L. ursinus ، .Marasmius spp. المركبات مثل فاليرال والايزوفاليدال يتكون عند كسر عيش الغراب. البادئات تخزن فى الهيفات. معظم هذه المركبات لها فعل مانع للتغذية.

✓ ميلينات Melleins

عزلت من Aspergillus ochraceus, Apiosphora camptospora, Cercospora taiwanensis (Turner and Aldridge, 1983) and Fusarium larvarum المركب له تاثير صارع بعد الحقن فى الحشرات Knockdown

Isovelleral

✓ مونوسيرينات Monocerins

تنتج من Drechslera monoceras (= Helminthosporium monoceras) and fusarium larvarum (Grove and pople, 1979) أحدث حقن المونديسيرين (١٧,٥ ميكروجرام فى حشرة C. vicina ٤٢% موت.

Monocerin Derivative

✓ مسكيمول والمركبات المرتبطة Muscimol and related compounds

لقد تم عزل المكسيمول وحامض أيبوتينيك من Amanita muscaria، .A pantherina والانواع القريبة من عيش الغراب. المكسيمول يقتل ٤٥% من حشرات الذباب المنزلى عند تركيز ٤٠ مللجم/الغذاء فى اليوم كما يقتل ١٠٠% من يرقات البعوض عند ٢٠ مللجم/ يرقة فى ٢٥ دقيقة. المسكيمول يعمل كمشارك agonist فى مستخلصات الجهاز العصبى المركزى فى الصرصور. حامض ايبوتينيك فعال على

هاتين الحشرتين وهو يعمل كمشارك مع الجلوتامات. لقد تم عزل مركب حامض ترايكولوميك tricholomic من Trichoma muscaria وهو يشابه حامض أيبوتينيك فى الفاعلية ضد الذباب. المسكارين عزل من Amanida spp. وهو يتداخل مع مستقبلات خاصة فى كلا النظم العصبية فى الفقاريات والحشرات.

HO, N, O, $CHCO_2H$, NH_2

Ibotenic Ac

OH, N, O, H_2NCH_2

HO, CH_3O, O, CH_3, CH_2N^+—CH_3, CH_3

Muscarine

✓ حامض ميكوفينوليك Mycophenolic acid

تم عزل الحامض من أنواع البنسيليوم، فيرتيسيكلا ديللا ابينتينا وسبتوريا نوتوروم. الحامض يثبط تخليق الحامض النووى DNA ويغير من نظام الياف glial فى مزارع الخلايا السرطانية. أظهر الحامض بعض الفاعلية ضد حشرة H. zea عند تركيز ٢٥٠ جزء فى المليون.

CH_3, CH_3O, O, HO_2C, OH, O

Mycophenolic Acid

⇙ صبغات نافثازارين Naphthazarin pigments

صبغات النافثازارين والمركبات القريبة فيوزاروبان، انهيدروفيوزاروبين، جافانيسين عزلت فى سلالات فيوزاريوم سولانى، فيوزاريوم جافانيكم الممرضة للحشرات. هذه المركبات تمسك أيونات المعادن مخلبيا ومن ثم توجد مواقع مستهدفة عديدة للفعل.

Anhydrofusarubin

Javanicin

⇙ نيجرا جيلين Nigragillin

اسبرجلس نيجر تنتج نيجراجيلين وهو يحدث صرع فورى يتبعه الموت عندما يعامل فميا بتركيز ٥ ميكروجرام/جم من يرقات دودة الحرير.

Nigragillin

Nominine نومينين

لقد تم عزل نومينين فى سكلوروشيا أسبرجليس نوفيس واسبرجلس الياسيس. المركب فعال ضد H.zea و C. hemipterus.

Nominine

Ochratoxins أوكراتوكسينات

لقد تم عزل المركبات من أنواع البنسيليوم والاسبرجلس منها سكليروشيا اسبرجلس كربوناريوس. يحدث المركب خفض فى معدل نمو الحشرات أتاجينس يونيكولور. المركب يحدث تأثير فى تركيب أنيبات ملبيجى.

Ochratoxin A

Ochrindoles أوكريندولات

لقد تم عزل المركب فى سكليروشيا أسبرجلس أوكريسيس وهو يسبب خفض فى نمو حشرة H. zea مع تركيز ٢٠٠٠ جزء فى المليون.

Ochrindole

✓ باراهيركواميدات والمركبات القريبة Paraherquamides and related compounds

البنسيليوم شارليسى وبنسيليوم باراهيركوى تنتج مركبات الهيركواميدات. المركبات فعالة ضد بعض الحشرات ولكنها فعالة أساسا ضد النيماتودا. المركب القريب المسمى سكليروثياميد عزل من اسكلوروشيا أسبرجلس سكليرونيوم. يحدث المركب أعراض غير عادية بين الحشرات حيث يحدث انتفاخ فى الغشاء بين الحلقات تحت صفائح الجليد فى بعض الافراد مع جرعات غير قاتلة. كذلك يحدث شقوق فى الجليد وسواد ويستتبع ذلك أكسدة. مركبات DOPA فى الهيموليف بواسطة الفينيل اكسيديزيس. مع النيماتودا يتداخل المركب مع تنظيم الضغط الايدروستاتيكى فى الهيموسيل.

Sclerotiamide

✓ أوكرامينات Okaramines

لقد عزلت الاوكرامينات من البنسيليوم سيمبليسيميوم P. simplicissimum ووجد فعال ضد يرقات دودة الحرير مع المركبات أوكرامينات A-G.

Okaramine A

⇙ باسبالينين ومشتقاته Paspalanines and derivatives

لقد عزلت هذه المركبات من فطريات كلافيبس باسبالى ومزارع اسبرجلس فلافس وسكليروشيا A. flavus و A. nomius واسكوستروماتا للفطر E. shearii. المركب فعال عند تركيز ١٠٠ جزء فى المليون ضد H. zea ويسبب خفض نمو C. hemipterus. مشتقات المركب باسبالينين لها فاعلية ضد الحشرات كذلك مثل ١٤- هيدروكسى باسبالينين، ١٤ (ن — ن ردايمثيل — إل — فاليلوتسى) باسبالينين. كذلك تم عزل باسبالين من فطر Claviceps paspali واسبرجلس فلافس، سكليروشيا A. alliaceus.

Paspaline

Paspalinine

⇙ باتولين Patulin

ينتج بواسطة أنواع عديدة من البنسيليوم. المركب غير فعال عن طريق الفم ولكنه يحدث ٩٥% صرع فى حشرة الدروسوفيلا بعد الملامسة لمدة ٢٤ ساعة بمعدل ١٠ ميكروجرام/سم. المركب يحدث خلل فى الاغشية الخلوية فى مزارع الخلايا وهذا ما يحدث فى الحشرات.

Patulin

⇙ باكسيلينات Paxillines

تنتج بواسطة بنسيليوم باكسيلى والاسكوستروماتا للايوبنسيليوم شيارلى. الباكسينات التى عزلت من E. shearli وجدت متفاوتة فى كفاءتها ضد الحشرات. مركبات ٢١- ايزو بنتينيل باكسينيل، باكسينيل، ٧- هيدروكسى -١٣- ديهيدروباكسيلين، ١٢- ديهيدروكسى اكسيلين، ١٨,٢- ديوكسو -١٨,٢- سيكرباكسيلين تحدث خفض فى نمو H. zea مقداره ٥٥، ٨٣، ٦٥، صفر، ١٧%على التوالى.

Paxilline

⇙ حامض بنسيليك Penicillic acid

عزل من أنواع عديدة من البنسيليوم والاسبرجلس. المركب يحدث خفض ٩٤% فى تغذية الدروسوفيلا و ٩٠% موت في دودة ورق القطن عند تركيز ١٠جزء فى المليون.

Penicillic Acid

بنيتريمات والمركبات القريبة Peniterems and related compounds

لقد تم عزل مركب بنيتريم من البنسيليوم كرستوسم، بنسيليوم سيكلوبيوم. لقد تم عزل بنيتريم B وسيكوبنيتريم من سكلوروشيا اسبرجلس سلفوريس. يفترض أن البينتيريمات تعمل على مواقع الجابا GABA nergic. المركبات تحدث خفض في نمو حشرة H. zea

بيرامين Peramine

ينتج البيرامين بواسطة الفطر الداخلى "اندوفايت" أكريمونيوم أروندناسيا. المركب بيرامين مسئول عن مقاومة المن روبالوسيفم بادى فى tall fescue وخنفساء الساق الأورجينية L. bonariensis ومقاومتها فى الراى المعمر. المركب يعمل على تثبيط نشاط السيتوكروم P-450 ذات النشاط الهادم فى دودة ورق القطن.

Peramine

فومالاكتون Phomalactone

يتحصل عليه من هيبومايسيس روزلليس، نيتروسبورا، فوم مينسبورا

(+)-Phomalactone

Pyripyropene بيربيروبين

ينتج من اسبرجلس فوميجاتس والاسكوستر وماتا للأيوبسيليوم ريتيكيوليسبورم بسبب أن تمثيل الكوليسترول هام كذلك فى حشرة H. zea فان كيفية حدوث الفعل فى هذه الحشرة تشابه ما يحدث مع الجرذان.

Radarins رادارينات

تم عزل هذه المركبات من سكليروشيا اسبرجلس سلفوريس. الرادارينت A-D أحدثت ٥٢,٧، صفر، ١٧,١% خفض فى النمو فى يرقات H. zea عند ١٠٠ جزء فى المليون.

Ramulosin derivatives مشتقات رامولوسين

مشتقات أيزوكومارين رامولوسين عزلت من الفطر كانوبولبا الجانتيولا.

Ramulosin Derivative

روبراتوكسينات Rubraoxins

تم عزل المركبات من بنسيليوم روبروم، بنسيليوم بيربيروجينوم. المركب روبراتوكسين B.A ذات جرعة نصفية قاتلة LD50 تساوى ١٨، ٢٠٠ جزء فى المليون ضد حشرة L. sericata.

Rubratoxin B

روجيولوسين Rugulosin

تم عزل المركب من أنواع البنسيليوم، M. verrucari ، H. dematioides

Rugulosin

شيارانينات Shearanines

تم عزل المركبات من اسكوستروماتا للفطر أيوبنسيليوم شياری. الشيارينينات C.B.A ذات فاعلية فى خفض نمو يرقات C. heonipetrus

Shearinine A

الاستيرولات Sterols

أستيرول سلفات تنتج بتركيز ١٥٠٠ جزء في المليون بواسطة الفطر جراميناريس. لقد أختبر كمصدر للاستيرول يؤثر على الانسلاخ ضد يرقات حرشفية الاجنحة و الخنافس. المركب لا يؤثر على تغذية الحشرات الكاملة C. hemipterus

Fusarium Sterol Sulfate

سلبينينات Sulpinines

تم عزل هذه المركبات بواسطة اسبرجلس سلفوريوس. المركبات سلفينين C,B,A تحدث خفض فى نمو يرقات H. zea عند تركيز ١٠٠ جزء فى المليون.

Sulpinine A

تينيو أزويك أسيد Tenuazonic acid

حامض تينيو أزويك: الفا- أسيتيل- جاما- سيك- بيوتيل تترامبك أسيد تنتج بواسطة الفطر الترناريا الترناتا. المركب يعمل كمثبط لتخليق البروتين.

Tenuazonic Acid

Terphenyls ترفينيلات ↙

المركبات 3.3"-dihydroxy-6-desmethylterphenyllin,3'-demethoxy- 6'desmethyl 5'-methoxycandidusin B and 6'-desmethylcandidusin B عزلت من سكلير وشيا بنسيليوم رايستريكا.

Terphenyllin Derivative

Terrirems ترتريمات ↙

لقد تم عزل هذه المركبات من أسبرجلس تيريس. الترتريمات C.B.B.A لم تحدث موت كبير فى حشرة H. zea ولكنها أحدثت خفض كبير فى نمو اليرقات.

Territrem B

Trichothecenes ترايكوسيسينات ↙

تضم مجموعة كبيرة من ممثلات الفطريات التى تنتج بداية بواسطة أنواع الفيوزاريوم وأقرانها. تشمل هذه المجموعة الميكوتوكسينات مثل توكسين T_2 والديوكسين فاليفول والداى أسيتوكسى سكريبينول. لقد أختبرت هذه المركبات بشكل مكثف مما أدى الى قيام البحاث بتناولها تبعا لتأثيراتها على الرتب المختلفة من الحشرات. فى غمدية الاجنحة تم عزل مركب ينخفض مع التغذية هو فيروكارين من مايروتيكيوم روريديوم. المركب توكسين T_2 بمعدل ١٠٠ جزء فى المليون أطال فترة تطور اليرقات للضعف فى خنفساء ترابوليوم كونفيوزوم وقد ثبت وجود تداخل بين

المركب ومحتوى البروتين فى الغذاء. كذلك أحدث المركب تنشيط فى انزيم ATP-ase فى اليرقات بينما انخفض هذا الانزيم فى الحشرات الكاملة للخنافس.

عصارة الخنافس أسرعت من انهيار المركب وداى أسيتوكسى سكربنبول مع حرشفية الاجنحة اتضح أن بعض التراايكوسينيات التى تنتج من فيوزاريوم جراميديوم أحدثت خفض فى نمو حشرة H. zea كما فى حالة ٨- هيدروكسى كالونكترين، ديوكسينيدكالينول، ديهيدروكسى كالونكترين، ٩- ١٠- ديهيدروكسينفالينول. المركبين داى أسيتوكى سكربيينول ونيوسولانيول أحدثا ٤٨، ٤٦% نشاط مانع للتغذية ضد حشرة G. mellonella مع تركيز ٥٠ جزء فى المليون.

Deoxynivalenol

Diacetoxyscirpenol

T-2 Toxin

تولبيين Tolypin

التركيب غير متوفر وهو مركب ثابت ضد التحلل الحرارى وهو ناتج تمثيل قابل للذوبان فى الماء على خلاف السيكلوسبورينات وهى تنتج بواسطة الفطريات Tolypcladium Cylindrosporum و T. inflatum.

توبينجينسينات Tubingensins

التوبيينجينسين A عزل من سكلوروشيا أسبرجلس توبينجينسيز.

Tubingensin A

✓ فيريويكولجين وأقرانها Verruculogen and relatives

لقد تم عزل هذه المركبات من الفطريات البنسيليوم والاسبرجلس وهى تحدث خفض فى معدلات نمو حشرة H. zea وغيرها. الفيريوكولجين يثبط مستقبلات الجابا فى مخ الجرذان وعضو الكهرباء فى سمك التورنيد كما أنه قد يتداخل مع نظم الجابا فى الحشرات.

Verruculogen

✓ فيرسيميد Versimide

الفيرسيميد: ميثيل -الفا (ميثيل سكسينيميدو) اكريليت ينتج بواسطة اسبرجلس فيرسيكولور وهو يسبب ١٠٠% صرع ضد حشرات الدروسوفيلا البالغة عند التلامس بتركيز ٥ ميكروجرام/سم٢ فى ٤ ساعات.

Versimide

Viomellein فيوميلين ⇙

ينتج بواسطة الفطريات أسبرجلس ميلليس، سلفوريس، بنسيليوم سيتريوفيردى، بنسيليوم فيريديكاتوم، ميكروسبوروم توكى. يسبب المركب خفض فى التغذية.

Viomelleir

Xanthones زانثونات ⇙

المركب ١،٣،٥،٦- تتراهيدروكسى -٨- ميثيل زانثون عزل من سكليروشيا بنسيليوم اسنريكس وفاعلية غير معروفة ضد حشرة H. zea

Xanthone Derivative

Zearalenone زييرالينونات ⇙

تنتج بواسطة العديد من فطريات الفيوزاريوم. المركب يحدث زيادة فى نشاط ATP-ase فى حشرة خنفساء الدقيق.

Zearalenone

✓ الببتيدات الحلقية المضادة للحشرات **Antiinsectan cyclic peptides**

✓ الفا- أماتيتين **α- amanitin**

عزل المركب من عيش الغراب للفطر أمانيتا فالويدز وهو يثبط تخليق الحامض النووى RNA فى الكائنات وحيدة النواة eukaryotes بما فيها ارثروسيفالا عندما حقنت بتركيز ٠,٥ ميكروجرام/ يرقة. المركب يثبط نشاط دوبا ديكروبوكسيليز فى بعوض الابيديس أيجيبتى ولكنه يثبط تخليق التربسين فى الاساس. المركب أكتينومايسين D مثبط أخر لتخليق RNA له نفس التأثير. حقن١ميكروجرام الفا- امينيتين فى حشرة كالينورا فيسسينى أحدث تثبيط ى دوبا- ديكروبوكسيليز. بالنسبة للتأثير على RNA - بوليميريز II فى حشرة الدروسوفيللا مع مشتقات الالفا- أمانتين اتضح حدوث خفض كبير ومؤثر مع مجاميع الهكسيل أو المجاميع الاطول. السلالات المقاومة ضد الدروسوفيللا وجدت بها انزيم بوليميريز II أقل حساسية للالا- أمانتين.

α-Amanitin

✓ أسبوكراسين **Aspochracein**

الاسبوكراسين مركب تراى ببتيد حلقى. (ن - ميثيل - إل - فاليل - ن - ميثيل - إل- الانيل. عندما حقن المركب فى دودة الحرير بتركيز١٥ميكروجرام/جم حفز حدوث شلل تبعه موت.

Aspochracein

↙ باسيانوليد Bassianolid

تم عزل المركب من بوفاريا باسيانا والفرتيسيليوم ليكانى

Bassianolide

↙ بوفاريسين Beauvericin

ينتج بواسطة الفطر بوفاريا باسيانا وكذلك فطريات باكيلومايبس فيوموزا-روسيس، بولى بورس سلفوريوس وأنواع الفيوزاريوم. لقد وجد البوفاريسيين بداية فعال وسام ضد يرقات البعوض.

Beauvericin

↙ سيكلوسبورينات Cyclosporins

تنتج بواسطة الترايكودرما بولى سبوروم، سيلندروكاربون ليوسيدوم وكذلك أنواع الفيوزاريوم. السيكلوسبورينات C.B.A وجدت فعالة ضد الكيوليكس.

Cyclosporin A

Destruxins ديستروكسينات

لقد تم عزل ووصف الديستروكسينات B,A من الفطر أووسبورا وبستركتور (metarhizium anisopliae) وأسبرجلس أوكرسيوس. مشتق الديستروكسين A المعروف روزيتوكسين B عزل من ترايكوتيكيوم روسيوم وهو مشابه فى الفاعلية للايستروكسين A.

Roseotoxin B

Efrapentins إيفرابينتين دى

تم عزل المركبات من ممرض الحشرات Tolypocladium niveum. المركبات تعتبر مثبطات لمختلف انزيمات ATP-ase فى الذباب المنزلى.

Ac-PIP-AIP-PIP-AIB-LEU-β-ALA-GLY-AIB-AIB-PIP-AIB-GLY-LEU-AIB-X

Efrapeptin D

Enniatins أنياتينات

تم عزل هذه المركبات من أنواع الفيوزاريوم مثل F. lateritiium و F. avenaceum، F. sambucinum. المركب فعال ضد يرقات البعوض.

Enniatin B

Isariins ايسارينات

تم عزل هذه المركبات فى الفطر Isaria felina. عندما حقنت ٢٠ ميكروجرام فى حشرة G. mellonella حدث موت بعد ٣ أيام مع مركبات السيارين (B-D)، صفر، صفر، ٥٠، ٦٠% على التوالى.

$(CH_2)_3 — CH_3$

CO — CH_2 — CH — O

Gly — L-Val — D-Leu — L-Ala — L-Ala

Isariin D

شيراميد A Shearamide A

شيراميد A عبارة عن أوكتا ببتيد حلقى وجد أولا فى أسكوستروماتا للفطر أيوبنسيليوم شيارى.

Shearamide A

البروتينات المضادة للحشرات Antiinsectan proteins

مثبطات ألفا- أميليز α- amylase inhibiors

مثبطات الالفا- أميليز HOE-467 (tendamistat) PAIM, HAIM, عزلت من ستربتومايسيس تندى. HOE-467 به٧٤حامض أمينى تساوى ٨ KDa بروتين مع اثنان من كبارى ثنائى كبريتيد (١٩٩٩ CAS). هذا المركب لم يظهر أى فاعلية ضد الالفا- أميليز من العديد من حشرات حرشفية الاجنحة ولو أنه عند 5-260 ميكروميتر سجل خفض فى النشاط حوالى ١٥- ٢٠% مع الفوثوريميا أوبيركيولليلا.

توكسينات باسيلليس سفيريكس Bacillus sphaericus toxins

يوجد نوعان من هذه التوكسينات أحدهما يأتى من سلالات عالية السمية وتوكسين منفرد (SSII-1) يأتى من السلالات الاقل سمية وهى تنتج خلال مرحلة النمو

الخضرى. طبيعة هذه التوكسينات معقدة حيث توجد ببتيدات متعددة كما يبدو حدوث بعض التنشيط بسبب عملية التحلل المائى للبروتينات فى معدة الحشرة. التوكسين المشترك يتكون من نوعين من البروتينات ذات أوزان جزئية ٤٣، ٥٦ KDa مع جينات مقابلة ذات الشفرة ٤١,٩ ، ٥١,٤ KDa بروتينات. التوكسينات فعالة فى الاساس ضد بعوض الابيديس والكيوليكس.

↙ توكسينات باسيلليس ثورينجينسيز Bacillus thuriengensis toxin

سوف نتناول الكلام عن هذه التوكسينات فى مواضع لاحقة من هذا الكتاب.

↙ لوفاريا سلفوروسينس السام للجليكوبروتين Beauverie sulfurscens toxic glycoprotein

لقد تم عزل البروتين TF_2 من فطر بوفاريا سلفروسينس ذات الوزن الجزيئى ٢٩ KDa ويبدو أنه جليوكوبروتين دون نشاط محلل للبروتين.

↙ كيتينيزيس Chitinases

نشاط الكيتينيز المشتق من الميكروبات الفعالة أو المنشطة مع البروتينات الاخرى سجل فى العديد من الدراسات المرجعية ولو أن أى منها لم يشير الى مصدر الكيتينز. الانزيم كيتينيز من فطر سيراتيا ماريسينس ذات وزن جزيئى ٣٦٠٠٠ مع درجة حموضة مناسبة ٨,٥- ٩.

↙ كوليسترول أكسيديز Cholestrol oxidase

كوليسترول أكسيديز (٥٢,٥ KDa) عزل من ستربتومايسيس وجدت سامة للأنثونومس جرانديس. الانزيم أحدث تأخير فى نمو يرقات حشرة دودة اللوز الامريكية ودودة ثاقبة الذرة ودودة اللوز القرنفلية بمقدار ٨٦ ، ٤٦ ، ٣٠%على التوالى مع تركيز ١٠٠ جزء فى المليون. أكسدة الكوليسترول ترتبط غالبا بنشاط الالكالاين فوسفاتيز المخفض فى أغشية الفرشاه فى أنواع الحشرات المختلفة.

↙ توكسين الكلوستريديوم Clostridium toxin

الضمين البارا جرثومى من كلوستريديوم بيفيرمينتانس من الصنف السيرولوجى مالايزيا ووجدت فعالة ضد يرقات بعوض الانوفيلس ستيفنسى. الفاعلية قد تكون مرتبطة بالنشاط المحلل للبروتين. لقد عزل ثلاث بروتينات ذات أوزان جزيئية ١٦، ١٨، ٦٦ KDA من مزارع البكتريا وكان وجودها مرتبط بالسمية على الانوفيلس ستيفنسى.

↙ هيرسيوتيلينات Hirsuellins

لقد تم عزل هيرسيوتيلينات من مزارع هيرسوتيللا ثومبسونى. لقد كان الوزن الجزيئى للبروتين المنقى ١٥٠٠٠وكانت نقطة الايزو الكهربية عند حموضة ١٠,٥. المركب هيرسيوتللينA يعمل ببطئ شديد محدثا ١٠٠%موت عند ٨٠٠ ميكروجرام فى١٥يوم، ١٠٠موت بتركيز ٢٠٠ميكروجرام بعد ٣٠ يوم من الحقن فى يرقات دودة الشمع. المركب أكثر فاعلية ضد الابيديس إيجيبتى.

↙ ليكتينات Lectins

بالرغم من أن العديد من الفطريات تنتج ليكتينات فان المركبات التى أختبرت أظهرت فاعلية محدودة ضد الحشرات.

↙ فوسفوليبزيس Phospholipases

لقد أختبرت مستحضرات نصف منقاه من الفوسفولسيز ضد الحشرات. المستحضر الاكثر فاعلية من ovis ٢٠٢٠ كان ذات أقل وزن جزيئى (١٥- ١٧ Kda) وأعلى نقطة أيزو كهربية (درجة حموضة ٩,٥ودرجة قلوية مناسبة نسبيا ٨,٤) بالمقارنة بالمصادر الاخرى.

↙ توكسينات فوتورابدس لومينيس Photorhabdus luminscens toxin

البكتريا فوتورابدس لومينيس يرتبط بممرض الحشرات مثل النيماتودا تنتج العديد من التوكسينات. المعقد المنقى من المنتجات (٢٥- ٢٠٧ كيلو دالتون) من الجينات المكونة وجدت سامة لحشرة ماندوكا سيكستا.

↙ بروتيزيس Proteases

لقد تم عزل البروتيزيس السام من بسيدوموناس ايريوجينوزا. السمية على دودة الشمع بسبب حقن البروتيزيس ($x\ 10^{-3}$ وحدات بروتيز كلى لكل يرقة) كانت١١٠مع بروتيز B (الوزن الجزيئى ١٧ كيلو دالتون ١٣٩ tu/ ملليجرام)، ٣٦ للبروتيز، (٦ كيلو دالتون ، ٢١٦ tu/ ملليجرام) فى مقابل ٥٠ للبروتيز D (١٣ كيلو دالتون ، ٢٤,٢ tu/ مللجم) ، ٧٠- ٨٠ مع بروتيز E (٤٠ كيلو دالتون ، ٩٧ tu/ مللجم). بالنسبة لحموضة المثلى كانت متعادلة مع بروتيز C,B (PH= ٧,٥) نصف قلوية مع بروتيز D (PH= ٨) وقلوية مع بروتييز E (PH= ٩). لقد تم عزل بروتييزيس سامة أخرى من سيراتيا مارسينس. الميتالوبروتييز له درجة PH ملائمة بينما السيرين بروتييز له

حموضة ملائمة ١٠,٩. كلا الروتيبزيس لهما وزن جزيئى ٣٧ كيلو دالتون.
البروتيبزيس السام عزلت كذلك من الفطر Metarhizium arisopline. البروتيبز P1 له حموضة ملائمة ٧,٢٥ أما بروتيبز P2 له حموضة ملائمة ٩,٠ البروتيبزيس السامة عزلت كذلك من فطريات بوفاريا باسيانا. البروتيبز ذات الوزن الجزيئى المنخفض له درجة حموضة ملائمة قريبة من ٦,٥ بينما البروتيبز ذات الوزن الجزيئى العالى لها درجة حموضة ملائمة بالقرب من ٩.

✓ ريستريكتوسين Restrictocin

ينتج بواسطة أسبرجلس ريستريكس وهو عبارة عن بروتين ريبوسومى غير نشط (فوسفوداى استريز) حيث يكسر اختياريا هذه الرابطة فى الحمض النووى RNA الريبوسومى. الريستريكتوسينات الاخرى مثل الفا- ساركين والميتوجيلين (ينتج كذلك بواسطة أنواع الاسبرجلس) يرتبط عن قرب من الناحية الترتيبية. يحدث الريستريتوكسين فى الاف عديدة من أجزاء فى المليون فى تراكيب مكونة الجراثيم للاسبرجلس- يستركتس ويحدث السمية ويثبط وع تغذية الخنافس والديدان.

✓ البروتينات الخضرية كمبيدات حشرية Vegetative insecticidal proteins (VIPs)

VIP's تنتج خلال مرحلة النمو الخضرى للبكتريا وتم عزلها من باسيلليس سيريس. البروتينات الابتدائية (٨٠، ٤٥ كيلودالتون) عزلت من سلالة AB78 وكانت فعالة ضد خنافس ديابرؤتكتيس عنه مع D.virgifera و D. longicornis عنه مع D. undecimpunctata وليس ضد الكريز وميليدى الاخرى أو اية خنافس أخرى أو بعوض. لقد وجدت بروتينات مشابهة فى الباسيلليس ثورينجينسيز من الصنف تينيبريونيس. لقد تم عزل بروتين اضافى Vip 3A (a) من سلالة باسيلليس ثورينجينسيز وهو ذات وزن جزيئى حوالى ٨٠٠٠٠ وهو فعال ضد العديد من أنواع ديدان حرشفية الاجنحة والمنتجات المكونة تحقق اكثر من ٩٥%موت من الدودة القارضة عند تركيز ٠,٠٧ جزء فى المليون. البروتين Vip 3A يحدث شلل فى المعدة عند تركيز ٤ نانو جرام/سم٢ ويحدث تحلل فى الخلايا الطلائية للمعدة عند تركيز ٤٠ نانو جرام/ سم٢. هناك VIP أخر ينتج بواسطة الباسيلليس سفيريكس.

✓ بروتينات غير موصفة Uncharacterized proteins

هناك العديد من المواد البروتينية غير المعروفة (بناء على الحركة مع الحرارة وغيرها من الخصائص) تنتج بواسطة انتوموفثورا كوروناتا و E. apiculata حيث تسبب موت فى يرقات دودة الشمع على شكل اسوداد الهيموليف.

✱ التنشيط Synergism

- المخلبيات/المواقع الأيونية Chelators/ ionophores مثل حامض الكوجيك وحامض الفيوزاريك منتشرة بشكل واسع فى الفطريات. نقد نشر أن هذين الحامضين يعملا كمواد منشطة Synergists للمركبات ذات الحدوث المرافق Coocuring. من المعروف أنها تثبط الانزيمات وثيقة الصلة بها مثل المونوأكسيجينيزيس والبيروكسيديزيس/فينولوكسيديزيس. الخلائط الأخرى من نواتج تمثيل البنسيليوم والفيوزاريوم يمكن أن تحدث تأثيرات تنشيطية على الحشرات. البيرامين يستطيع أن يثبط انزيمات الهدم التأكسدية ويعمل كمنشط. لقد اقترح تداخل تنشيطى للسيكلوسبورينات والتولوبين. هناك ميل للقول بأن التداخلات التنشيطية بين نواتج تمثيل الحدوث المرافق والبروتينات منتشرة وهى تعمل بناء على استراتيجيات الدفاع أو الهجوم defensive/ offensive.

- التداخلات التنشيطية مع البروتينات ذات السمية المباشرة أو تلك التى تسهل نفاذية البروتينات الاخرى أو المركبات ذات النشاط الحيوى وجدت ذات أهمية كبيرة حاليا وفى منظور المستقبل. هناك بعض الامثلة حيث مخاليط الكيتينيزيس وتوكسينات الباسيلليس تأكد أنها تنشيطية. من المفترض أن الكيتينيز يكسر الحاجز مثل الغشاء حول الغذائى بما يسمح بنفاذ أكثر للبروتين النشط. الممرضات الفطرية التى تنفذ من جليد الحشرة يبدو أنها تساعد بواسطة الانزيمات الهادمة للكيوتيكل مثل الكيتينيز والليبيزيس والبروتيزيس. مخاليط البروتينات هذه تكون ذات قيمة وفاعلية فى الطعوم والممرضات الحشرية والنباتات المهندسة وراثيا لهدم المادة الجليدية الداخلية المبطنة للغشاء حول الغذائى للحشرة بما يسمح بنفاذ نواتج التمثيل النباتية الثانوية أو البروتينات.

- المركبات التي تستهدف نفس مواقع التأثير تنتج بواسطة نفس الكائن. كمثال فان الاسبرجلس فلافيس ينتج الافلاتوكسينات التى تتداخل مع تضاعف الحامض النووى الدنا DNA والسيكلوبيازونيك أسيد التى تثبط انزيم ATP- ase نقل الكالسيوم

ومركبات مسببات الاورام termorgenic التى يبدو أنها تعمل على مواقع طاقة الجابا GABA nergic وكذلك حامض الكوجيك الذى يثبط انزيمات الهدم وفقد السمية وكذلك انزيمات الدفاع فى الحشرات والنباتات والافلافانينات التى تثبط NADH أكسيديز. هذا يعطى مثال واضح على استراتيجية منع المقاومة فى الحشرات المستهدفة. هذه الاستراتيجية تفتح المجال وتغطى دلائل عن امكانية استخدام نواتج التمثيل الثانوية المشتقة من الكائنات الدقيقة و/أو البروتينات لحماية النباتات أو هندسة ممرضات للحشرات أكثر كفاءة وفاعلية.

- الحشرات من جهة أخرى قادرة على تطوير المقدرة للتعامل مع مختلف الدفاعية كما سيق القول من منظور المقاومة النسبية والتمثيل. مثبطات البروتيزيس السامة من الفطر M. anisopliae أستخلصت من دو ة الشمع G. mellonella. لقد حدثت مستويات أكبر فى الهيمولميف مقارنة بما فى المعدة أو الجسم الدهنى. المثبط كان أكثر فاعلية عما هو الحال مع بروتييزسيرين الميتاهيزيوم كما أن له بعض الفاعلية ضد سلفهيدريك بروتييز.

✱ اتجاهات المستقبل/ المنظور التجارى

بعض المركبات التي نوقشت قبلا دخلت الى المرحلة التجارية مثل مركب الافيرمكتينات والاسبيوسينات وبلورات بروتينBT والكوليسترول أكسيديزيس وتوكسينات VIP للاستخدام فى النباتات المحورة وراثيا. أسباب الاتجار وصفت قبلا ومن أهمها الكفاءة البيولوجية العالية جدا ضد الحشرات مع نسبة موت عالية فى مدى ١٠ جزء فى المليون عن طريق الفم أو ٠,٠٠١ ميكروجرام/حشرة عن طريق المعاملة الفمية. الاختيارية ذات أهمية كذلك. مع استمرار التكلفة العالية (عملية ملايين متعددة من الدولارات) للتطوير والتسجيل للمبيدات الحشرية والنباتات المهندسة وراثيا فان المركبات ذات النشاط الحيوى يجب أن تمر من خلال بطاريات عديدة من الاختبارات حتى يمكن الوصول للاتجار الناجح.

المصادر الجديدة للمركبات تعتبر الخطوة الفاتحة والمحددة للاقترابات الايكولوجية أدت الى معدلات عالية من الكشف بالمقارنة مع التفرقة التجارية. هذا ولو أنه لم يصل أى من المركبات المكتشفة بيئيا الى المرحلة التجارية بسبب المعدلات الواطية من النشاط والفاعلية بالنسبة للمعايير التى وصفت قبلا. النظر الى المصادر الجديدة أو التى لم تعرف قبلا قد اقترحت كاستراتيجية. مطلوب مجهود مشابه لتعريف

البروتينات الفعالة حيث مطلوب اختبار من٤٠٠ ــ ١٠٠٠٠ مزرعة لإيجاد منتج يصل الى المرحلة التجارية. كل المركبات التجارية فى الوقت الراهن تنتج أو تشتق من الباسيلليس أو استربتومايسيز والتى عرفت من خلال التفرقة العشوائية. الكشف والاكتشاف من المصادر الايكولوجية قد يعطى فرص أقل حيث الحشرة المستهدفة فيها نظم تمثيل غير محورة أو متكيفة. الدراسات أظهرت أن الحشرات التى تتغذى أفضليا على الفطريات مثل خنافس عصير كاربوفيلس كانت أكثر مقاومة عن الديدان التى تتغذى على المركبات المعزولة من الفطريات. مرة أخرى خلص الباحثون الى أن البروتينات الجديدة من الناحية الايكولوجية تجعل من تكيف الحشرة لها قليلا. هذا يفسر نجاح مواد ووسائل مكافحة الافات التى يتحصل عليها من عزلات التربة ولو أن البروتينات الناتجة بواسطة ممرضات الحشرات تعتبر استثناء بشكل واضح.

بسبب أن النظم الهادفة خاصة فى الافات الكبرى درست باستفاضة فانه يكون من المحتمل فى الوقت الراهن التنبؤ بأى من أنواع المواقع والشقوق تتعرض للهدم وفقد السمية. من الممكن أن المصدر الاكثر غرابة "alien" كمصدر ومن ثم المركب الذى يمكن الحصول عليه فان الحشرة تكون أقل ميل للتعامل والتوافق معه أو تطوير سلالات مقاومة له كما أن المركبات المشتقة من الميكروبات ذات مقدرة عالية مع هذه الخاصية. هذا ولو أن تمثيل الحشرات للشقوق التركيبية مشابهة لما تم تكيفة فى النباتات مع مركبات الفا ــ أمانيتين، أفيرمكتينات، أفلاتوكسينات، ديستروكسينات، ترايكوسيسنيات، جريسيوفولين والبروتينات. الكائنات الدقيقة التى لا تقتصر على حشرة واحدة تعتبر مصدر أفضل لمركبات ذات دوام طويل وأكثر فاعلية ولكن معدل الاكتشاف يكون أقل من الاقترابات الواردة من البيئة.

نظرية المقاومة تفترض بوجه عام أى المواقع المستهدفة لمتعددة الواجب التعامل معها كما هو الحال مع مخاليط المركبات حيث تقلل من تطور المقاومة. كما ذكر قبلا فان التوكسينات المتعددة التى تنتج بواسطة نفس النوع يمكن أن تكون ذات طرق احداث فعل مختلفة كما تعمل كمنشطات. الدلائل الحديثة للنشاط غير المباشر بواسطة الانزيمات التى تولد الاكسجين مثل البروكسيديزيس أو البولى فينيل أوكسيديز التى لها طرق فعل متعددة ومواقع احداث فعل متعددة أدت الى الاقتراح بأن المقاومة تكون صعبة التطور بواسطة الحشرات بسبب الجينات المتعددة التى يجب أن تتغير. الفطريات تنتج انزيمات أكسدة مشابهة مثل التيروسينيزيس والكسيزيس.

التحكم في مسار فردى أو تغييرات فى الجين المنظم قد يؤدى الى الحصول على مركبات جديدة نشطة بيولوجيا متعددة التأثير كما وصف مع جينات R. P. C. A فى الدرة. كلونة معقدات البولى كيتيد سمحت بنجاح هذا الاقتراب مع الميكروبات والنباتات كذلك.

كيمياء الخلط Combinatorial chemistry تعتبر طريقة تؤدى للحصول على تراكيب يمكن اشتقاقها السريع الى مركبات أكثر فاعلية وأكثر اختيارية والتى لم تدخل الى حيز التنفيذ مع الوسائل الكيميائية التقليدية.

الاقترابات الجديدة فى البيولوجيا الجزيئية تسمح بعزل الحامض النووى الدنا والجينات المؤثرة من ٩٩,٩% من الكائنات الدقيقة.

الفصل الثالث

متطلبات تسجيل واعتبارات الامان فى وسائل المكافحة الميكروبية للآفات

أولا: المتطلبات من أمريكا الشمالية North America

الوسائل الميكروبية لمكافحة الآفات دخلت الاستخدام التجارى فى أمريكا الشمالية منذ ما يقرب من اربعين سنة. الان ظهرت انواع من البكتريا والفطريات والبروتوزوا والفيروسات على مستوى قليل ولكن بتوسع بالتدريج فى الولايات المتحدة الأمريكية وكندا. لقد استغلت مميزات هذه الوسائل من حيث كيفية احداث الفعل المتخصص العوائل فى مكافحةالذباب من (كيوليسيرى) والذباب الاسود (سيموليدى) والعديد من الآفات الزراعية وتلك التى تضر بالغابات. التشريعات الخاصة بالمبيدات الميكروبية الحشرية ظلت سنوات عديدة تعتمد على المعايير والمقاييس السابقة التى اتبعت مع المبيدات المخلقة الكيميائية. الان وضعت الدولتان متطلبات للتسجيل تأخذ فى اعتبارها الخصائص المتميزة للكائنات الدقيقة. حديثا توجه وتركز الاهتمام ناحية تقييم المبيدات الميكروبية المهندسة وراثيا والعمل فى اتجاه التعديل والضبط المناسب لبرامج التشريع الجارية عن هذه الوسائل.

المبيدات الميكروبية ينظر اليها بشكل ملائم من منظور الامان بسبب المدى العوائلى الضيق ونقص السمية على الثدييات او المرضية او التوافق مع الكائنات النافعة وبالتالى دورها وقيمتها فى نظم وبرامج الادارة "متكاملة للآفات. هذا ولو ان النجاح التجارى لهذه المنتجات تختفى وراء مدى النشاط الطبيعى لهذه المستحضرات وقصر فترة الحياه فى الحقول او النشاط البطئ ضد الآفة المستهدفة. للتعامل مع هذه المشاكل تبذل مجهودات مكثفة لتطوير مستحضرات اكثر ثباتا فى البيئة وعزل سلالات سوبر واستخدام كلا الطرق التقليدية والحديثة من المناورة manipulation. مثل الحامض النووى دنا المندمج لانتاج منتجات اكثر فاعلية ذات مقدرة عالية على المنافسة.

الاعتبارات العامة للأمان: تسجيل المبيد الميكروبى يتضمن امكانية الاستخدام التجارى العريض والتعرض البيئى. لذلك فان السلطات المسئولة عن التشريع يجب ان تأخذ فى

الاعتبار تاثيرات التعرض للمبيد على الصحة العامة والبيئة. تعرض الانسان قد يكون مباشر مع عمليات الخلط والتحميل وتطبيق المركب او بشكل غير مباشر كما فى حالة التعرض الغذائى من خلال استهلاك المحاصيل الغذائية المعاملة. الكائنات غير المستهدفة (NTO's) توجد فعلا فى البيئة مرافقة coexist مع الممرضات الحشرية entomopathogens التى تحدث طبيعيا. هذا ولو ان الاستخدامات الواسعة للكائنات الدقيقة تتطلب التقييم بسبب وجود علاقات رقمية ومتزامنة ومؤقتة بين وسائل المكافحة الميكروبية والكائنات غير المستهدفة (NOT's).

- **تقويم الخطر Risk assessment** للمبيدات الميكروبية يعنى التقييم العلمى الجهازى لبيانات الضرر hazard والتعرض متبوعا بوضع الاستنتاجات حول المقدرة على احداث المخاطر الصحية والبيئية نتيجة لاستخدام المبيد (الضرر x التعرض = الخطر). يعبر عن الضرر بمسميات التأثير المعاكس على الكائنات غير المستهدفة NTO مثل الموت الذى ينتج من التوكسين الميكروبى او غيرها من الافعال المرضية. تعرض NOT's قد يكون مباشر وقت المعاملة او غير مباشر نتيجة لتكاثر الاحياء الدقيقة وانتشارها. اذا اخذت هذه العوامل بشكل مستقل نجد انه لا الضرر ولا التعرض لوحدهما تملك اعتبار على صحة الانسان او البيئة. المشاكل المؤثرة تحدث عندما تتعرض الكائنات غير المستهدفة الحساسة الى المبيد الميكروبى ذات القدرة على احداث تأثير معاكس عليها.

نموذج تقييم الخطر الذى ذكر اعلاه هو الاساس لنظم حزم البيانات المطلوبة التى وضعت من قبل السلطات الكندية والامريكية لتقييم المبيدات الميكروبية الطبيعية. بوجه عام فان التعريف الواعى للمركب بالاضافة الى بيانات التأثيرات الصحية وعلى البيئة المطلوبة موضحة فى الجدول (١- ١). فى العادة فان الاختبارات الاضافية(مثل الحزمة او البطارية الثانية (Tier II) تكون مطلوبة فقط عندما تشير نتائج البطارية الاولى الى حدوث ضرر على الكائنات غير المستهدفة بمعنى ان تكون نتائج وتأثيرات الاختبارات موجبة. اختبارات البطارية الثانية تشير الى تطور بيانات التعرض وكذلك التأثيرات الاضافية على الكائنات غير المستهدفة. لذلك فان وسائل مكافحة الآفات الميكروبية المسجلة فى الوقت الراهن لا يوجد من بينها ما يتطلب اختبارات فيما وراء البطارية الاولى(Tier I). لكل دولة حرية التشديد او التخفيف فى بروتوكولات اختبارات تقييم امان واداء هذه الوسائل الميكروبية.

جدول(١ــ١): البيانات المطلوبة لتنفيذ التسجيل والاستخدامات التجريبية للمبيدات الميكروبية فى الولايات المتحدة الامريكية (a)

البيانات المطلوبة	متى تطلب البيانات	
	التسجيل	السماح Eup باستخدام تجريبى
← تحليل المركب Product anaiysis		
هوية او ذاتية المركب وعملية التصنيع	R	R
مناقشة تكوين مواد غير مطلوبة	R	R
تحليل العينات	CR	CR
شهادة الحدود	R	R
طرق التحليل	R	R
الصفات الطبيعية والكيميائية	R	R
تسليم العينات	CR	CR
← تحليل البقايا او المخلفات Residue analysis	CR	CR
← التوكسيكولوجى Toxicology		
البطارية الاولى Tier I		
التعرض الحاد عن طريق الفم	R	R
التعرض الحاد عن طريق الجلد	R	
التعرض الحاد عن طريق الرئتان	R	R
التعرض الحاد عن طريق الحقن الوريدى	R	R
الالتهابات الاولية على الاعين	R	R
الحوادث من فرط الحساسية	R	
زراعة الانسجة (الفيروسات)	R	R
البطارية II والبطارية III	مطلوب اختبارات اضافية بناء على نتائج البطارية الاولى	
← بطارية الكائنات غير المستهدفة والمصير البيئى (ط)		
التاثيرات البيئية		
التاثيرات على الطيور عن طريق الفم	Rc	Rd
التاثيرات على الطيور عن طريق الاستنشاق	CRd	
الثدييات البرية	CRd	
اسماك المياه العذبة	Rc	Rd
اللافقاريات المائية فى المياه العذبة	Rc	Rd
الحيوانات البحرية وعند المصب	CRd	–
النباتات غير المستهدفة	Rd	Rd
الحشرات غير المستهدفة	Rc	Rd
نحل العسل	Rc	Rd
← البطارية II - السلوك البيئى	البيانات المطلوبة تتوقف على نتائج اختبارات البطارية I	
← البطارية III - التأثيرات الايكولوجية	البيانات المطلوبة تتوقف على نتائج اختبارات البطارية I	
← البطارية الرابعة Iv - دراسات المحاكاة والدراسات الفعلية على الكائنات الارضية والمائية	البيانات المطلوبة تتوقف على نتائج البطارية I	

R = مطلوبة   CR = مطلوبة تحت ظروف خاصة   – = غير مطلوبة

- توجد متطلبات عادية للبيانات. فقد تطلب بيانات قليلة او اضافية فى حالات خاصة. فى EUP قد تكفى قليل من البيانات بناء على طبيعة الكائنات الدقيقة والاستخدام المحدود للمبيد.
- b تعنى ان البروتوكولات الموصى بها تمت مراجعتها لجعلها فى قوائم مع نتائج البحوث والخبرات الحديثة. العبارات الخاصة بها اذا كانت البيانات مطلوبة دوما او عرضيا يجب تحديثها بما يتفق مع تمشيها فى نفس مسار المعلومات والتطبيقات الجارية.
- C تعنى ان البيانات مطلوبة تحت ظروف خاصة اى مشروطة كما فى الصوب والاستخدامات فى داخل المبانى والمنشآت.
- d ليست مطلوبة لاستخدامات الصوب وداخل المبانى.

EUP السماح بالاستخدام بغرض التجريب Experimental use permit

التعريف الدقيق للكائنات الدقيقة المطلوب تسجيلها تمثل الخطوة الاولى فى تقييم التأثيرات على صحة الانسان والبيئة. التعريف يقدم كذلك تأكيدا عن تجانس وعدم تلوث المنتج واساسيات اختبارات المركب كما يقدم النقطة المرجعية للمقارنة مع الكائنات الدقيقة المعروف عنها احداثها لتأثيرات صحية وبيئية. فى هذا السبيل تؤخذ العديد من النقاط قبل اجراء اية اختبارات متعلقة بالضرر. مثال ذلك يوصى بإجراء تجارب اقل من حيث العنفوانية فى حالة ما اذا كان المبيد لا ينتمى لأى فرع او مجموعة او هو فرد من افراد الكائنات الدقيقة ذات الاهمية السريرية Clinical او تلك المعروف عنها احداثها للمرضية فى الانواع ذات الاهمية الاقتصاديه والبيئية.

تقييم الضرر يتطلب تقديم المعلومات لتوضيح ما اذا كان الكائن الدقيق ممرض او سام او له تأثيرات معاكسة اخرى ام لا. كما هو موضح اعلاه فان المدى العوائلى للكائنات الدقيقة وكذلك العلاقات مع ممرضات معروفة من العوامل الهامة والمحددة لتحديد نوعية وحجم البيانات المطلوبة وكذلك تعريف اى مجاميع الكائنات غير المستهدفة NOT's التى تتطلب تقييم اكثر شدة. مثال ذلك ان اختبارات المبيدات الحشرية الميكروبية على NOT's قد تركز بداية على تقييم وضع الحشرات النافعة المرتبطة بالافة المستهدفة او التى تميل للتعرض في المساحات المعاملة.

المعلومات المطلوبة لتقييم التعرض تشمل البيانات عن بقائية الكائن الدقيق والنمو والتكاثر والانتشار. تقويم التعرض يتوقف على المقدرة على الكشف عن والتحديد الكمي للكائن الدقيق في الوسط البيئي الذي يعيش فيه. ان قاعدة بيانات التعرض في تقويم المخاطر يعتمد على كيفية حدوث الخفض في بقائية الكائن الدقيق ونقص نموه. بوجه عام فانه من أصعب الأمور توضيح ان الوسيلة الميكروبية لمكافحة الآفات سوف تموت بشكل كامل بعد المعاملة. لذلك فانه من الصعوبة استبعاد إمكانية ان الكائن الدقيق يبقى ويستمر في المعيشة في مستويات اقل من حدود الكشف ومن ثم يكون قادرا على النمو والانتشار عند تجدد الظروف البيئية الملائمة لمعيشته. هذه الصعوبات من احد الأسباب التي حتمت ان تتضمن البطارية الأولى من اختبارات تقويم المخاطر ضرورة تعريف الكائن الدقيق وتقويم الضرر. حينئذ فانه إذا تأكدت إمكانيات احداث ضرر معنوي مؤثر في اختبارات البطارية الأولى يكون من اللازم اجراء تقويم عميق عن التعرض في البطارية الثانية Tier II.

- **برنامج التشريع الامريكي** Us regulation program:

التشريع القومي لمبيدات الآفات في الولايات المتحدة الأمريكية يصدر من قبل وكالة حماية البيئة الأمريكية Environmental protection Agency (EPA) تحت سلطات ومسؤليات القانون الفيدرالي للمبيدات الحشرية والفطرية والقوارض(FIFRA) الذي صدر عام ١٩٧٢ وتم تعديله في يوم ٢٤ أكتوبر ١٩٨٨. في أمريكا كل ولاية قد تشرع وتضع قوانينها الخاصة بما يعزز إصدار وتشريع الوكالة EPA. القانون الفيدرالي ينص صراحة على ان كل المبيدات (بما فيها الكائنات الدقيقة) يجب ان تسجل قبل ان يسمح لها بالبيع والتداول على المستوى التجاري. درجة التشدد من قبل وكالة EPA يعتمد على درجة استخدامات المركب والتعرض البيئي. في العادة وبوجه عام فان الاستخدام والتعرض يرتبطا بمرحلة تطوير المركب. مثال ذلك من ان توقع الاختبارات الحقلية على المستوى البسيط سوف تؤدى الى الحد الادنى من التعرض والخطر ومن ثم تستدعى تشدد اقل من قبل الوكالة. بوجه عام فان الاختبارات التوسعية فيما قبل التسجيل للكائنات الدقيقة بغرض تقييم الفاعلية والحصول على معلومات بقصد التسجيل فى العادة تتطلب اذن بالاستخدام والتجريب experimental use permit (EUP). من جهه اخرى فان الاختبارات التوسعية (وكذلك الاستخدامات التجارية

الكاملة) قد تؤدى الى نعرض مكثف مع احتمالات قوية لحدوث مخاطر. لذلك فان الوكالةEPA تضع قيود اشد كثيرا فى الحالة التوسعية من الاستخدام. بعد تقييم المعلومات والبيانات المقدمة قد تقوم وكالةEPA بتسجيل هذه المنتجات عندما تستخدم تحت توصيف دقيق لا يحمل فى طياته احتمالات حدوث مخاطر غير معقولة على صحة الانسان والبيئة.

البيانات العادية المطلوبة للاستخدام بغرض التجريب وتسجيل المبيدات الميكروبية وضعت وشرعت تحت العنوان" البيانات المطلوبة لتسجيل مبيد لكل من المحاور الخمسة الكبرى المطلوب عنها بيانات وهى: تحليل المنتج، تحليل البقايا، التوكسيكولوجى، التأثيرات الايكولوجية والسلوك البيئى (الجدول ١ــ١). البيانات المطلوبة لاغراض التجريب تعتبر من المطالب الفرعية من البيانات المطلوبة للتسجيل.

فى العديد من الحالات فان الحاجة لتحديد متطلبات خاصة من البيانات تعتمد على نظام استخدام المبيد. لذلك فان البيانات المطلوبة فى كل ناحية يجب ان توصف صراحة اما مطلوبة required او مطلوبة تحت ظروف معينة conditionary required او غير مطلوبة not required مع كل النظم الكبرى لاستخدام المركب: الاستخدامات الارضية على المحاصيل الغذائية او غير الغذائية، الاستخدام على الاطعمة الغذائية او غير الغذائية، الاستخدامات فى الصوب على المحاصيل الغذائية وغير الغذائية، الاستخدامات فى الغابات وخارج اماكن السكن وفى داخل المنشأت والمبانى.

مع كل بيانات مطلوبة يجب التحديد وبوضوح التواكب مع البيانات الموجودة فى القسم الفرعى M فى دلائل التقويم للمبيدات. هذه الدلائل تحتوى على طرق اختبار موصى بها وبروتوكولات تستخدم لوضع وتطوير البيانات المطلوبة. الدلائل guidelines تراجع وتحدث بما يعكس التحسينات الحديثة التى استجدت فى طرق الاختبار والخبرات التى اكتسبت فى تقييم نتائج الاختبارات فى السنوات الخمس الماضية والتركيز على الوثائق بشكل مباشر اكثر من المنظور الميكروبيولوجى للاختبارات المطلوبة. التحديدات الاكثر اهمية وتأثيرا تشمل التغيرات فى طرق ومستويات تعرض الكائن الحى للوسيلة الميكروبية لمكافحة الأفة حتى يمكن النصح بظروف اختبارات تقارب كثيرا التعرض الواقعى الحادث فعلا. الدلائل التى روجعت كانت متاحة عام ١٩٨٩. خطوات اعداد البيانات المطلوبة للاستخدام بغرض التجريب

ونسجيل المبيدات الميكروبية موجودة فى مدونة التشريعات الفيدرالية Code of Federal Regulations فى الجزء ١٧٢ وكذلك الجزء ١٦٢على التوالى. هذه التشريعات توصف الظروف التى يجب توفيرها فى حالة طلب الموافقة للتجريب EUP او بغرض التسجيل. هذه التشريعات تقدم بيانات تفصيلية عن متطلبات التقدم التجريبىEUP والتسجيل والبطاقة الاستدلالية للمركب والبيانات التعضيدية واجراء التجارب الحقلية فى البرامج الخاصة بالتجريب. العناصر الاساسية فى طلب السماح بالتجريب EUP تتضمن تعريف المنتج تحت الاختبار، الكميات التى تستخدم، مواقع ومساحات الاختبار، مقترح برنامج الاختبار، البطاقة الاستدلالية للمركب، تحليل المركب والبيانات الخاصة بالامان. البيانات الخاصة بطلب التسجيل تشمل نفس البيانات مع بيانات اضافية تغطى بشكل مباشر كل ما يتعلق بالاستخدامات التجارية للمبيد.

المنتجات من استخدامات طرق الهندسة الوراثية مثل الحامض النووى دنا المندمج recombinant DNA وصلت حتى النقطة التى أكدت ضرورة اجراء اختبارات حقلية لتقييم الفوائد. من منظور التساؤلات العلمية واهتمامات العامة عن هذه المنتجات حددت وكالة حماية البيئة الامريكية EPA ان من الحكمة تقييم مبيدات الافات الميكروبية المهندسة وراثيا قبل استخدامها فى البيئة. هذا على عكس الكائنات الداخلية التى تحدث طبيعيا والكيميائيات والتى لا تتعرض لاستعراضات مرجعية تقليدية حتى تستخدم فى التجارب التوسعية. سياسة الوكالة عن الدراسات المرجعية على كل نواحى المبيدات الميكروبية المهندسة وراثيا صدرت عام١٩٨٦ فى سياسة تضمنت اصدارات الوكالات الفيدرالية الاخرى التى تضطلع بمسوليات فى هذا الاتجاه (مثل هيئة الزراعة والغذاء والدواءFDA ووزارة الزراعة والمعاهد الصحية القومية).

تحت مدونة السياسات لعام ١٩٨٦ يكون على الوكالة استيفاء البند 9od قبل البدء باجراء اية اختبارات حقلية على المستوى الصغير. على المتقدم بطلب التجريب او التسجيل ان يزود الوكالة بالمعلومات والبيانات الموجودة فى الفقرة الخاصة بالسياسات بما فيها تعريف الكائن الدقيق وكيف يمكن المناورة به، والمعلومات عن السلالة او السلالات الابوية او تلك المهندسة وراثيا بما فيها صفات النمو والبقاء والمنافسة والمدى العوائلى والتأثيرات المؤثرة على الكائنات غير المستهدفة NOT's والمعلومات الخاصة بمقترح وتقييم الدراسات الحقلية المقترحة.

قد تكون هناك حاجة لبيانات اضافية اعتمادا على الكائنات الدقيقة الخاصة وطبيعة التغيرات الوراثية والمادة التى تدخل ومقترح نظام الاستخدام. هذا الاستعراض المرجعى عن كل حالة بحالة يسمح للوكالة EPA باجراء تقييم جيد عن الاختبار المقترح وتحديد ما اذا كان مطلوب اذن سماح بالتجريب EUP ام لا. عند هذه المرحلة الابتدائية فان البرنامج العلمى للتقويم فى الوكالة يأخذ فى الاعتبار العوامل الفاتحة لحدوث الخطر الذى يؤدى الى تأثيرات معاكسة مؤثرة للمبيد الميكروبى حتى مع التجارب المصغره: المقدرة على البقاء والاستقرار فى منطقة جديدة، القابلية او المقدرة على القيام بوظائف جديدة، نقل المادة الوراثية المغروسة فيه الى كائنات دقيقة اخرى والمنافسة.

اذا كان الاختبار الحقلى المقترح لا يمثل اية مخاطر معنوية مؤثرة وفى حالة عدم طلب بيانات اضافية فانه لا تكون هناك حاجة للحصول على اذن للسماح بالاستخدام EUP قبل اجراء الاختبارات الحقلية. اذا برزت تساؤلات حول مخاطر المركب الميكروبى او كانت هناك حاجة لبيانات اضافية او تم عمل برنامج استكشاف فان الوكالة قد تقرر الحاجة للحصول على اذن سماح بالاستخدام EUP بغرض التجريب قبل البدء بالتجريب فى الحقول. فى هذه الحالة يجب استكمال كل طلبات الحصول علىEUP. ما وراء مرحلة الاختبار على المستوى البسيط يجب التقدم وتوفير كل متطلبات التجريبEUP والتسجيل لكلا المبيدات الميكروبية المهندسة وراثيا وغير المهندسة وراثيا. قد تطلب بيانات اضافية عن الكائنات المهندسة وراثيا ولكن فقط عن الخواص التى برزت لها اهتمامات اضافية بناء على طبيعة المادة الوراثية التى ادخلت او الطريق الذى احدث تغيير فى المبيد او فى استخداماتة.

برنامج التشريع الكندى Canadian Regulatery Program:

كل مبيدات الافات بما فيها وسائل المكافحة الميكروبية يجب ان تتعرض للتقويم العلمى للبيانات الخاصة بالامان والفاعلية قبل التسجيل او البيع او الاستخدام فى كندا. تسجيل جميع مبيدات الافات يقع تحت القانون الرسمى لمنتجات مكافحة الافات Pest Control Products Act (pcp) والتشريعات تحت مسئولية قطاع المبيدات فى الانتاج الغذائى وفرع المتابعة فى الزراعة الكندية. بالاضافة الى ذلك يوجد عدد من القوانين الفدرالية الاخرى التى تضطلع باستخدامات وتشريعات المبيدات. على وجه

الخصوص فان قانون الغذاء والدواء يحدد الحدود القصوى لمخلفات المبيدات Maximum Residue limits مع جميع الاستخدامات الغذائية.

الهدف الاول من عملية الاستعراض المرجعى يتمثل فى تأكيد الامان والفوائد وقيمة واهمية المنتجات ذات التأثيرات الابادية على الافات. يتناول هذا الاستعراض المرجعى الاستعانة بالخبرات الواسعة مع التركيز على الوصول لافضل القرارات المتوازنة. الخبراء من الوكالات الفدرالية الاخرى تقوم باستعراض اجزاء من البيانات تبعا لخبرات كل منهم كما فى تعليقات رجال البيئة الكنديين عن السلوك البيئى ومردوداته والتأثيرات المعاكسة الواضحة على الاحياء الارضية كما يقوم خبراء الثروة السمكية والمحيطات باستعراض التأثيرات على الكائنات المائية ويقوم خبراء الصحة والحياه الاجتماعية بتقويم الاضرار المهنية والعرضية ووضع الحدود القصوى للمخلفات على الاطعمة وكذلك رجال خدمات الغابات يستعرضون النواحى المتعلقة بالغابات والبيئة. دلائل التسجيل والبيانات المطلوبة وبروتوكولات وسائل المكافحة الميكروبية فى تطور مستمر. اقتراب البطارية يتبع للوقوف على تقويم المخاطر المؤثرة على صحة الانسان والتأثيرات على البيئة اعتمادا على خصائص ومواصفات المادة مثل الكائنات التى توجد طبيعيا فى مقابل المهندسة وراثيا، درجة الهندسة الوراثية، الكائنات الطبيعية فى مقابل غير الطبيعية والاستخدام المقصود او المستهدف. الاهتمام والتجريب مع الوسائل الميكروبية والحيوية فى المكافحة ذات جدوى فى كندا منذ بداية الستينات. فى عام ١٩٦٢ تم تسجيل مستحضرين من بكتريا باسيلليس ثورينجنسيز وكانتا تمثلان المبيدات الميكروبية الاولى التى استخدمت فى كندا. فى عام١٩٨٢ تم تسجيل مستحضرات بكتريا ثورينجينسيز تحت النوع اسرائيلينسيز (النوع السيرولوجى H14) ونوعان من فيروس البولهيدروسيز النووى (فيروس فراشة دوجلاس وفيروس فيرتاسوك O. pseudotsugata وفيروس ذبابة نشارة الصنوبر حمراء الرأس N. lecontei.

لقد تم استعراض مرجعى لوسائل ميكروبية للمكافحة جديدة بشكل تقليدى على اساس حالة- حالة او ان الاقتراب التشريعى المبكر لم يميز بين الوسائل الحيوية عن المبيدات الكيميائية. لقد تم نشر مسودة خاصة للدلائل التشريعية عن المبيدات التى تحدث طبيعيا فى عام ١٩٨٦.

استجابة للنمو السريع فى البحوث والتطور الصناعى فى مجال التكنولوجيا الحيوية تجرى مجهودات جبارة لوضع وتطوير الدلائل بحيث تشمل كل الوسائل الميكروبية للمكافحة. التحدى يتمثل فى تجهيز البيانات المطلوبة على اسس علمية سليمة والتى تتكون من جهه مناسبة لمسؤلى التطوير ولكنها من ناحية اخرى تؤكد على الامان على صحة الانسان والبيئة. فى الوقت الراهن تعتبر عملية التسجيل من الاقترابات المرحلية. تشمل هذه العملية نظام خاص للسماح بالتجريب واستعراض التشريع متبوعا بالتسجيل الكامل (١- ٥ سنوات). بالاضافة الى ذلك توجد خطط تحت الاعتبار لتطوير برنامج معلوماتى ودلائل لمرحلة البحوث المعملية.

أ- متطلبات السماح باجراء البحوث Research Permit requirements

المتطلبات الحالية للسماح باجراء البحوث T-1- 126 (Trade memorandum,) لا تفرق بين المبيدات الكيميائية والوسائل الميكروبية كما ان التقدم بطلب السماح باجراء البحوث يستعرض على اساس حالة بحالة. دلائل السماح باجراء البحوث على الكائنات التى توجد طبيعيا تم تطويرها وتوزيعها لابداء الرأى والمراجعة والاستخدام على اسس واضحة فى موسم ١٩٨٨. الدلائل تتبع نفس المتطلبات العامة كما فى المنتجات الكيميائية. استمارة التقدم بطلب السماح باجراء البحوث مطلوبة لكل الوسائل الميكروبية بصرف النظر عن حجم التجربة. قد يتطلب الامر اجراء تجارب توكسيكولوجية مناسبة قبل اجراء الاختبارات الحقلية جنبا الى جنب مع اعداد البطاقة الاستدلالية وتوصيف الكائن ووصف الآفة المستهدفة ووضع تفاصيل برتوكول التجريب للتجربة المقدمة وكمية المنتج التى سوف تستخدم والمعدلات وحجم ووصف موقع او مواقع الاختبار. الخطوات والبيانات المطلوبة للسماح باجراء البحوث للكائنات المهندسة وراثيا ما زالت تحت التطوير. بالاضافة الى المتطلبات القياسية للسماح باجراء البحوث تم اخذ البيانات والمتطلبات التالية فى الاعتبار:

١- تفصيلات عن طريقة الهندسة الوراثية
٢- الصفات الجديدة الفينولوجية phenotypic والوراثية genotypic
٣- المقارنة مع الكائن او الكائنات الدقيقة من حيث النواحى البيولوجية والبقائية والتأثيرات البيئية
٤- تفصيلات عن خطوات الاستكشاف والكشف monitoring / detection
٥- خطط طوارئ للتعامل مع الموقف عند حدوث اى حادثة

ب- متطلبات التسجيل Registration Requirements

المتطلبات الوسيطة لتسجيل المبيدات الميكروبية التى توجد طبيعيا مدونة فى البند 229-1 -R فى الدلائل عن تسجيل المبيدات الميكروبية/الحيوية " البيانات الاساسية والمعلومات المطلوبة تتضمن":

١- تعريف وتوصيف المنتج متطلبا مواصفات المادة الفعالة (اكثر الصور تركيزا)، التصنيع، العينات، وطرق التأكد من الجودة
٢- بطاريات المتطلبات التوكسيكولوجية
٣- دراسات المخلفات
٤- اختبارات السلوك والتأثيرات البيئية
٥- دراسات التوكسيكولوجيا البيئية
٦- البيانات الخاصة بالفاعلية والاداء

تجرى مراجعة هذه الدلائل للوقوف على الوضع من الناحية الميكروبيولوجية بغرض التحسين وتقديم كائن اكثر تخصصية بين الانواع للاختبارات عن التأثيرات غير المستهدفة. وسائل مكافحة الافات المهندسة وراثيا سوف تقيم علي اساس حالة – بحالة باستخدام الدلائل الخاصة بوسائل المكافحة التى تحدث طبيعيا كنقطة بداية حتى يتم استكمال البحوث والدراسات لتطوير الدلائل الخاصة بتسجيل الوسائل المهندسة وراثيا. لقد تم نشر اعلان اسس ومتطلبات التشريع فى المدونة 123 -R. وفى عام ١٩٨٨ تم توزيع مسودة الدلائل لابداء الرأى.

REFERENCES

1- Federal Insecticide, Fungicide, Rodenticide Act of 1972, 7 U. S. C. 136 et., as amended October 24 1988.

2- Data Requirement for Pesticide Registration, Title 40, Code of Federal Regulations, Part 158, 1988.

3- Pesticide Assessment Guidelines – M, National Technical Information Service, Springfield, Virginia, # PB83- 153965 (revised guidelines to be available in 1989).

4- Experimental Use permits, Title 40, Code of federal Regulations, Part 172, 1988.

5- Regulations for the Enforcement of the Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act, Title 40, Code of Federal Regulations Part 162, 1988.

6- Microbial pesticides; Interm policy on small- Scale Field Testing, FR 49 (202), 40659, 1984.

7- Coordinated Framework for Regulation of Biotechnology; Announcement of policy and Notice for public Comment, FR 51 (123), 13302, 1986.

8- Control product Research programs, Trade Memorandum T-1-126, Pesticides Directorate, Agriculture Canada.

9- Guidelines for the Registrationof Microbial/ Biological pesticides, Memorandum to Registrant R-1-229, Pesticides Directorate, Agreculture Canada.

10- Regulation of Pesticides Product by Biotechnology, Memorandum to Registrant R-1-123, Pesticides Directorate, Agriculture Canada.

ثانيا: الاتحاد الاقتصادى الاوربى The European Economic Community (EEC)

EEC المعروفة بالاسم " السوق العام Common Market " وهى تمثل رابطة بين الدول الاوروبية بدون تعريفات جمركية او تحكم فى التجارة فيما بينها مع تعريفة خارجية عامة للمواد المستوردة. اتفق على تحرير حركة الاموال والعمالة داخل السوق مع درجة مناسبة من التنسيق المالى. عند تكوين الاتحادالاقتصادى الاوربى ECC فى عام ١٩٥٨ كان عدد الاعضاء ستة هم بلجيكا وفرنسا وهولندا وايطاليا ولوكسمبورج والمانيا الغربية انذاك. بحلول عام ١٩٨٧ توسع الاتحاد ليشمل بريطانيا وايرلندا والدنمارك واليونان والبرتغال واسبانيا. بينما ادخلت بعض نواحى التنسيق الشرعية والبيروقراطية مع كثير من المحاولات الا ان العديد من نواحى انشطة الاتحاد EEC ظلت منفردة غير مترابطة discrete وخصوصية مفرطة الحساسية idiosyncratic.

لقد كانت هذه الوقائع واضحة بشكل كبير مع اقتراب الاتحاد فى اتجاه تسجيل او الموافقة على ادخال المبيدات. بالرغم من المحاولات المضنية من قبل EEC لوضع نظام عريض يكافئ ما هو معمول به فى وكالة حماية البيئة الامريكية EPA ظلت منظومة تسجيل المبيدات من حقوق كل دولة دون الاتفاق على الاساسيات او الانشطة المشتركة الحقيقية.

دلائل الاتحاد الاقتصادى الاوربى للوسائل الميكروبية للمكافحة: بالرغم من تعقد التنسيق فيما بين حكومات هذه المنطقة قام المجلس الاوربى باصدار وثيقة بعنوان "الدليل عن تسجيل المواد البيولوجية المستخدمة كمبيدات". لقد صدرت الوثيقة لاعطاء دليل عريض للصناع عن اى البيانات المطلوبة من قبل وكالات التسجيل للموافقة على الوسائل التى توجد طبيعيا مثل البكتريا والبروتوزا والفطريات والفيروسات او طفراتها او اى وسائل حيوية اخرى لمكافحة الافات التى تصيب المحاصيل. الدلائل صنفت بشكل خاص الميكروبات التى صممت للاستخدام ضد الافات الثديية او تلك التى تمت مناورتها وراثيا.

الاساس العام للدلائل تمت صياغته على النحو التالى... على المعلم او المبلغ notifier ان يوضح ان استخدام الوسيلة لن يوجد اى اضرار غير مقبولة على المستخدمين او مستهلكى المنتجات المعاملة او الحياة البرية والبيئة". هذا هو الاساس الذى يستخدم ليس

فقط مع الوسائل الحيوية ولكن مع الوسائل الكيميائية كذلك. هذا الدليل يستخدم على المستوى العالمى وفى الدول تحت الاستعراض العام لوسائل مكافحة الافات. الوثيقة تتضمن طلب عن البيانات التى ينظر اليها خارج التوكسيكولوجيا التقليدية والتى لا ترتبط بشكل متخصص مع امان اى وسيلة ميكروبية. هذه المعلومات مطلوبة من قبل كل سلطات التسجيل فى دول الاتحاد الاوربى. هذه البيانات تشمل:

١- تفاصيل الخطوات والمعايير المستخدمة لتعريف الكائن تحت الاستعراض.
٢- بيانات عن المستحضر والشوائب الكيميائية.
٣- البيانات عن النقاوة الميكروبيولوجية متضمنة التاريخ وطرق التحليل وتوضيح ان "اى مكونات توصف كمكونات يمكن السيطرة عليها كمستوى مقبول".
٤- "طرق توضح خلوها من اى مرض على الانسان والثدييات". فى العادة اجراء اختبار توكسيكولوجى بجرعة واحدة مثل "جرعة العالية من الممرض التى تعطىللجرذان بواسطة الحقن البريتونى.
٥- بيانات التخصصية لتشمل مناقشة العلاقة التقسيمية مع الممرضات الفقارية ومعدل حدوث الطفرات.
٦- بيانات عن البقايا والمخلفات.

لن نناقش بيانات التوكسيكولوجى بالتفصيل فى هذا المقام. هذا بينما الدراسات عن العدوى والتضاعف فى داخل الجسم in vivo والمقدرة فى احداث الحساسية وخاصة مع جراثيم "الفطر الهوائية" تعتبر ضرورية. الوثيقة اقل تشددا عن الدراسات الحادة: "يكون مطلوب بعض جوانب تقييم السمية الحادة وتحت الحادة بشكل عادى". السرطانية carcinogenicity والتشوهات الخلقية Teratogenicity تؤخذ دراستها فى الاعتبار بشكل مناسب اذا كانت نواتج التمثيل السامة Metabolites معروف انها تنتج.

لم تتضمن وثيقة EEC اية بروتوكولات ولم تقوم اى دولة باستخدام التوصيات مباشرة. هذا ولو ان الوثيقة يجب ان تؤخذ فى الاعتبار بالتوافق مع هيئة الصحة العالمية WHO فان المجموعة الدولية للهيئات القومية لصناع الكيميائيات الزراعية، الهيئة الدولية للمكافحة الحيوية وكذلك EPA فانها جميعها تقوم بمناقشات مستفيضة لتطوير الطرق والخطوات المناسبة داخل كل دولة من دول الاتحاد الاوربى.

◆ **تشريعات المملكة المتحدة United Kingdom (U.K) regulations**

لقد اخذت المملكة المتحدة الصدارة بين الدول الاوربية فى تطوير الدلائل الخاصة عن الوسائل الميكروبية للمكافحة واصدرتها عام ١٩٧٩. فى ذلك الوقت كان تسجيل المبيدات فى بريطانيا اختياريا اى ليس اجباريا وبالمجان. هذا وبما انه واقعيا كل الشركات اذعنت للأمر تم ايقاف النظام الاختيارى بما يرضى النقاد والانتقادات. هذا الموقف عولج من خلال قانون حماية الغذاء والبيئة لعام ١٩٨٥ والذى يحث ويدفع الحكومة لوضع دلائل شرعية تعضيدية وتحصيل رسوم عن هذا العمل. لذلك فان الوسائل الميكروبية فى الوقت الراهن يجب ان تسجل. حيث ان دلائل المبيدات الميكروبية فى المملكة المتحدة كانت من اوائل الادلة ولا زالت الافضل بين الدول الاوربية فانها سوف تناقش بتفصيل اكثر عن المواقف فى الدول الاخرى.

أ. **تعريفات** Definitions: قامت المملكة المتحدة بتعريف المبيد على انه "اى مادة او تحضير او كائن يجهز بما يلائم استخدامه كمبيد" لذلك فان جميع الكائنات الحية التى يمكن ان تحل محل المبيدات الكيميائية التقليدية تتطلب تشريعات مهما كانت كيفية احداث الفعل. هذا بينما لو كان نفس النوع يستخدم لغرض اخر كسماد مثلا فانه لا يتطلب هذا التشريع. فى الناحية العملية والتطبيقية فان الدلائل تستخدم فقط مع البكتريا والفيروسات والفطريات والبروتوزا. النيماتودا لم توضع فى الدليل لانها عديدة الخلايا multicellular وهى تحتمل مع المواد الحيوية الاخرى مثل المفترسات والطفيليات. الدلائل استبعدت بوجه خاص الكائنات المهندسة وراثيا او الكائنات غير المتوطنة. لقد اخذت هذه الكائنات فى الاعتبار من قبل سلطات مختلفة على اساس حالة بحالة.

ب- **المتطلبات The Requirements**: المعلومات عن الوسيلة الميكروبية المقدمة موجودة فى"استمارة البيانات data sheet" للاجابة عن ١٣ مرتبة من الاسئلة. معايير التسجيل موضحة ولكن درجة ومدى المعلوماتية وكود استمارة البيانات"المقدمة" ترجع الى مقدم الطلب. نظم المعلومات المطلوبة فى استمارة البيانات معروفة فعلا لمقدم الطلب مثل طرق الانتاج والصفات البيولوجية والانواع المستهدفة ومعدلات الجرعة ...الخ.

بيانات الامان Safety data: البيانات التوكسيكولوجية المطلوبة وبروتوكولات التجريب موجودة فى الاستعراض. السلطات البريطانية تشجع طالب التسجيل لمناقشة البروتوكولات معها ومن ثم يكونوا قادرين على استعراض ومراجعة نوع وطبيعة البيانات المطلوبة حالة بحالة. الدلائل تنص على" كل طلب سوف يؤخذ فى الاعتبار من حيث فوائده ونصح الخبراء فى اتجاهى متطلبات الاختبار والطرق التى تستخدم. تقترح الدلائل كذلك ان الاختبارات على المنتجات الفيروسية تختلف عن تلك الخاصة بالوسائل الميكروبية الاخرى.

١- السمية الحادة واحداث العدوى Acute toxicity and infectivity

هذه المجموعة من الاختبارات على المستحضر والمادة الفعالة يشمل:

(أ) الجرعة الحادة عن طريق الفم (ب) الاستنشاق الحاد

(ج) الحقن تحت الجلد فى السمية الحادة (د) اختبار التهاب الاعين

(هـ) اختبار التهاب الجلد. البروتوكولات المقبولة لهذه الاختبارات تشابة فى نواحى كثيرة تلك الموصى بها من قبل وكالة EPA.

هذا ولو ان نقاط الاختلاف هذه جديرة بالاهتمام:

- المملكة المتحدة .U.K تطلب الجرعة القصوى العملية بدلا من وضع الرقم مثل ٥ جم/كجم. فى الناحية التطبيقية فان معدل ٥جرام يكون مقبول للسلطات البريطانية.
- المملكة المتحدة تطلب اختبارات المعاملة تحت الجلد وفى العادة لا تطلب فى جهات اخرى.
- المملكة المتحدة تطلب السمية الحادة لمدة ٢٨ يوم بالمقارنة باختبار يدوم ١٤ يوم فى معظم الدول الاخرى. من المثير للاهتمام ان بعض المسؤلين لا يقبلون اختبارات دوام ٢٨ يوم واختبار ذبح واحد بما يسمح بفترة طويلة جدا للحيوان حتى يشفى. من الناحية العملية فان اختبارات ١٤ يوم مقبولة فى المملكة المتحدة.
- المملكة المتحدة تطلب عمل دراسات عن المرضية النسيجية histopathology على الاعضاء الكبرى مع محاولات لاعادة عزل الكائن من الرئتان وسائل الملتحمة Conjunctival.

اختبارات العدوى تحت خفض المناعة مطلوب كذلك ولكن نادرا ما ينفذ. لا توجد بروتوكولات فى الدلائل وقيمة البيانات الاضافية فى العادة تؤخذ فى الاعتبار خاصة فى عدم توفر اية دلائل وعلامات عن العدوى من اى مصدر اخر.

الحساسية Allergenicity: الدلائل تنص على"لا يوجد فى الوقت الحالى اختبارات تمكن التوصية بها للطلبات العامة " لذلك فان مقدم الطلب يسأل عن وثائق وادلة تشير الى الحساسية فى العمال (ربما من خلال استمارات الاستبيان) وفى الحيوانات وثيقة الصلة بالموضوع. على المتقدم للتسحيل ان يجهز نفسه لاجراء اختبارات Magnusson/Kligman للوقوف على فرط الحساسية المتأخرة بالملامسة. هذا الاختبار يجب ان يجرى تحت اى ظرف من الظروف لانه اختبار غير مكلف ويمكن اجراؤه فى اى دولة خاصة المانيا الغربية لتعزيز اى توجه حول عدم الحساسية.

التوكسينات المعروفة Known toxins: اذا كان معروف وجود توكسينات معروفة او تنتج بواسطة الميكروب تطلب السلطات البريطانية بيانات عن الورمية tumorgenicity بناء على التحول الخلوى فى داخل الجسم وكذلك التشوهات الخلقية teratogenicity والتركيب الكيميائى للتوكسين وثباته. اختبار الطفرية mutagenicity باستخدام الكائنات الدقيقةeukaryotic أو prokaryotic مطلوب كذلك اذا كان معروفا ان التوكسين ينتج بواسطة الميكروب. فى الناحية العملية لا يطلب اى من هذه الاختبارات من منتجات الباسيلليس ثورينجيسيز. كشف مجموعة الاختبارات هذه مطلوبة مع الفيروسات وهذا يستلزم دراسات سمية ٩٠ يوم على الحيوانات.

- **التشريعات فى الدول الاخرى:** تطوير الدلائل الخاصة بتسجيل المواد الميكروبية خارج المملكة المتحدة تسير ببطئ واضح. معظم دول الاتحاد الاوربى EEC لا يوجد لديها بروتوكولات او خطوات مكتوبة عن هذه الكائنات. هذا بينما فى بعض البلدان (مثل هولندا وايطاليا) تم اعداد مسودة لطلب التسجيل. فى بلدان اخرى وضعت مذكرة او تسجيل شفهى مع الفريق العلمى المسؤل لارشاد وتوجيه طالب التسجيل. بالرغم من نقص الدلائل فان منتجات الباسيلليس ثورينجينسيز لمكافحة يرقات حرشفية الاجنحة (مثل مستحضرات الدايبيل والثورسيد والباكتوسيد) سمح بنزولها للاسواق على نطاق تجارى فى معظم الدول الاوربية. العديد من المركبات الميكروبية تباع فى بعض

البلدان الاوربية او قد تكون تحت التطوير فى بلدان اخرى. لذلك فانه بالرغم من التطوير والنقص فى معايير التسجيل الخاصة الا ان هذه المنتجات ووفق على استخدامها فى هذه الدول. يبدو ان هناك نظم تطبيق بما يسمح بتسجيل ونزول هذه المركبات للاسواق. فى معظم الدول الاوربية تم السماح باستخدام الوسائل الميكروبية لمكافحة الافات استنادا لمرجعية النظام المعمول به لتسجيل المبيدات الكيميائية.

نقص دلائل وتشريعات التسجيل القومى الخاص بالمبيدات الميكروبية لا يعنى بالضرورة عدم اهتمام هذه الدول بتسجيل هذه المركبات. الموقف يعكس بصورة اكثر حقيقية او صحيحة مع المواد الميكروبية التى قدمت بغرض الاستخدامات على النطاق التجارى وهى عادة واحد او اثنين نخص بالذكر باسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع كورستاكي. معرفة هذا الكائن جيدا واستخداماته المكثفة داخل الولايات المتحدة الامريكية ساعد كثيرا على اجازته والسماح باستخدامه فى معظم الدول الاوربية. فى دولة واحدة فقط هى الدينمارك يمكن بيع المبيدات الميكروبية بدون الرجوع الى مرجعية السلطات المسؤلة عن تسجيل المبيدات. التشريعات فى الدينمارك تقول وتنص صراحة على ان اى وسيلة مكافحة للافات يحدث القتل بالعدوى وليس بواسطة التوكسين ويعتبر وسيلة مكافحة حيوية ومن ثم لا يتطلب تسجيل. بينما التعريف يتضمن الفطريات والفيروسات الا ان تضمين الباسيلليس ثورينجينسيز محل تساؤل. هذا بينما يوجد مركب واحد على الاقل يباع كى يستخدم على الخضروات فى عام١٩٨٦. هذا الموقف قد يتغير فى المستقبل القريب حيث اعلنت السلطات انها بصدد اصدار نظام تسجيل مشابه لما هو معمول به فى المملكة المتحدة.

* **خطوات التشغيل:** من الناحية العملية فان الدول التى لا يوجد فيها دلائل خاصة تقوم بتسجيل المركب الميكروبى الذى يوجد عنه حزمة بيانات مشابهة لتلك التى تطلبها وكالة حماية البيئة الامريكية EPA. فى بعض البلدان يوجد اهتمام خاص عن الحساسية. فى معظم الحالات تكون شهادة التسجيل فى دولة المنشأ من الضروريات ولو ان هذه بنفسها ليست ضمان للموافقة على التسجيل. كذلك فان الدليل على ان الكائن يوجد طبيعيا فى الدولة من المتطلبات الضرورية المتبعة. بيانات الامان المطلوبة بواسطة هذه الدول تتضمن نتائج دراسات السمية على الثدييات. فى معظم الحالات لم ينص على معدلات الجرعة. فى العادة فان مسؤلى التسجيل يتبعون توصيات الوكالة

EPA مثال تجربة جرعة واحدة باستخدام ٥جم من مادة الاختبار لكل كجم من وزن الجسم.

مدى الاختبارات التى تكفى للحصول على تصريح وموافقة على الاتجار فى هذه الدول (كما فى ايطاليا) تشمل:

١- السمية الحادة عن طريق الفم

٢- السمية الحادة تحت الجلد

٣- السمية الحادة عن طريق الحقن البريتونى

٤- دراسات التغذية تحت الحادة (٩٠ يوم) (من النادر ان تجرى فى العادة)

٥- دراسات الالتهابات على الجلد والاعين

٦- السمية عن طريق الاستنشاق

٧- الحساسية والالتهابات

هذا بينما ان البيانات المطلوبة بواسطة معظم الدول تفتقر الى بعض النواحى نذكرها فيما يلى:

١) لقد برزت العديد من الاسئلة حول عدم الملاءمة مع الكائنات الدقيقة وكمثال فانه يطلب فى الغالب بيانات عن الضغط البخارى والذوبانية فى المذيبات او نقطة الغليان.

٢) من جهة اخرى فانه قد تبرز بعض المشاكل الخاصة ترتبط باستخدام الكائنات الدقيقة كمثال استجابات الحساسية او تلوث المنتج بواسطة الممرضات التى تصيب الانسان او الحيوان.

٣) بعض البيانات ينظر اليها على انها ضرورية لتقييم المبيدات الكيميائية كمثال مطلب دراسات التغذية المزمنة وهذه قد تكون غير ضرورية او غير ملائمة.

مثال ذلك ان الطلب للموافقة على المبيدات الميكروبية فى اسبانيا يجب ان يتضمن البيانات عن التمثيل فى الحيوانات. لا توجد اية بيانات تشير الى وجودها فى صورة مناسبة لتسجيل المبيدات الميكروبية. سوف نشير الى وضع اقترابات لتسجيل واستخدام المبيدات الميكروبية فى كل دولة من دول الاتحاد الاوربى فيما يلى:

(١) ***ايطاليا:*** لقد وضعت السلطات الايطالية استمارة للتعامل مع المبيدات الميكروبية. الاقتراب مبنى على النصائح من قبل السلطات البريطانية ولو ان هناك نقاط خلاف نذكرها فيما يلى:

- المعلوماتية عن صفات جودة التذوق Organoleptic (الطعم) للمنتجات الطازجة المعاملة مطلوبة فى ايطاليا.
- مطلوب دراسات الحقن تحت الجلد.
- مطلوب دراسات التغذية تحت الحادة لمدة ٩٠ يوم.

من الناحية العملية مسجل قليل جدا من المبيدات الميكروبية. الوقت اللازم للسماح باستخدام المركب يستغرق من ٥-٧ سنوات. هذا التأخير يبدو انه يرتبط بشكل كبير بالبيروقراطية وليس لاى شئ متعلق بالمنتج.

(٢) ***هولندا:*** الهولنديون وضعوا استمارة شبيهة لتلك الموجودة من قبل الاقترابات الايطالية. كذلك فان الطلبات تشمل عدد من النواحى مشابهه لتلك المطلوبة من قبل السلطات البريطانية والامريكية. نظام التسجيل فى هولندا يخضع لمسؤلية ثلاثة افرع حكومية منفصلة. وزارة الصحة القومية مسئولة عن كل ما يتعلق بنواحى الامان.

(٣) ***فرنسا:*** الفرنسيون ليس لديهم دلائل خاصة للمكافحة الميكروبية مع هذا فانهم سجلوا العديد من المبيدات الميكروبية. السلطات(مقارنة بالاخرين) على دراية خاصة بكفاءة انتاج التوكسينات الفطرية. الدليل على غياب هذه التوكسينات مطلوب.

(٤) ***جمهورية المانيا الاتحادية:*** الدلائل الخاصة بتسجيل الفيروسات الممرضة للحشرات وضعت عام١٩٨٣ ومع هذا لم يسجل اى مركب حتى الان. المواد الميكروبية الاخرى ما زالت تحت المناقشة او تخضع للمناقشة by negotiation. بالرغم من انه لم تدرج اية طلبات خاصة لتسجيل المواد الميكروبية الا ان السلطات الالمانية تولى اهتمام بمشاكل الحساسية. هذه السلطات تأخذ فى الاعتبار كذلك العديد من نواحى الامان البيئى والاختبارات المطلوبة فى الغالب اكثر تشددا من الدول الاخرى.

(٥) ***اليونان – اسبانيا – البرتغال:*** التسجيل فى هذه الدول الاوربية الجنوبية يتبع الخطوات المعمول بها مع المبيدات الكيميائية. لا توجد اية ادلة عن وجود اية اعتبارات خاصة للمبيدات الميكروبية ولو ان الباسيلليس ثورينجيسينيز تحت النوع

كورستاكى مسجلة فى الدول الثلاثة (يفترض طلب بيانات اقل مما هو مطلوب مع المبيدات الكيميائية). تسجيل مبيد البعوض باسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع اسرائيلينسيز اخذ وقتا اطول. الوقت اللازم لتسجيل المنتجات فى اليونان اطول كثيرا حتى انه يمتد لفترة تقارب الخمس سنوات. مرة اخرى يبدو ان هذا لا يرتبط بالمناقشات عن الامان النسبى للمبيدات الميكروبية ولكن يرتبط بالبيروقراطية التى تسبب التأخير.

اختبارات الجودة Quality control: فى معظم دول الاتحاد الاوربى تطلب بيانات اضافية لتعضيد حزمة التوكسيكولوجى القياسية وتأكيد الامان والنقاوة لكل قطفة انتاج. الطبيعة الدقيقة لاختبارات تأكيد الجودة هذه لا تذكر بالتفصيل من قبل اية سلطة فى دول الاتحاد الاوربى ومن ثم تترك لكل متقدم. لقد اقترح نظام لهذا العمل بواسطة Tate & lyle plc فى بداية الثمانينات وتمت الموافقة عليه من قبل الاتحاد الاوربى للطبيعة والكيمياء International union of physics and chemistry (IUPAC) للمبيدات الحشرية البكتيرية. النظام يبنى على مقاييس التلوث الميكروبى من قبل الاتحاد IUPAC فى أعلاف الحيوانات ويتكون من سلاسل من اختبارات النقاوة الميكروبيولوجية وحزمة واحدة من الاختبارات التوكسيكولوجية. المقاييس الخاصة بالاختبارات الميكروبيولوجية تتضمن:

١- الميزوفيل الحية النشطة	اقل من ١x١٠° /جم
٢- الخميرة والاعفان الحية النشطة	اقل من ١٠٠/جم
٣- الكوليفورم	اقل من ١٠/جم
٤- ستافليوكوكس اوريس	اقل من ١/جم
٥- سالمونيللا	اقل من ١ فى ١٠جم
٦- مجموعة لانفيلد D ستربتوكوكاى	اقل من ١ x ١٠^٤ /جم

تتكون حزمة الاختبارات التوكسيكولوجية اعطاء ٥x١٠^٦ جراثيم حية او وحدات مكونة المستعمرات من المادة الفعالة فى كل من الفئران الخمسة حقنا تحت الجلد. بعد اسبوع يتم قتل الحيوانات وتعرض للفحص بعد الموت postmortem. يتم رفض الحزمة اذا حدث: ١- اى وفيات، ٢- وجود دليل على حدوث تلف فى الاعضاء، ٣- وجود تأثيرات صيدلانية انعكاسية والتى تعتبر ضارة. حزمة الاختبارات

هذه تؤخذ كأحد مدخلات التأكد من الجودة (حيث تعتبر الحكم النهائى Final arbiter على حدوث اى ممرضات ثديية لم يكشف عنها فى الاختبارات الميكروبيولوجية) وكذلك كاختبار للطفرية او لظروف المزرعة التى قد تؤدى الى انتاج مادة سامة غير معروفة حتى الان hitherto بواسطة الكائن الدقيق المستخدم.

موقف التسجيل: توفر وجود العديد من المبيدات الميكروبية تفاوت بشكل واضح خلال العشرة سنوات الاخيرة وبسبب حالات الفشل مع العديد من المركبات وافلاس الشركات وغير ذلك من الاسباب. البيانات الموجودة فى جدول(١-٢) تتضمن المنتجات المتوفرة وقت اصدار هذا الكتاب ويعتقد انها سوف تسجل فى المستقبل القريب. الكائنات الحية تحت التجريب لا توجد فى الجداول. سوف أترك الجدول باللغة الانجليزية لسهولة قراءته.

خلاصة القول ان عملية تطوير تسجيل المبيدات الميكروبية ودلائل بيانات الامان بطيئة للغاية. بالاضافة الى ذلك لا يوجد برنامج او بروتوكول واسع للتسجيل فى الدول الاوروبية. لقد نشر بروتوكول ودليل مباشر فى انجلترا ولو ان العديد من الدول الاوروبية اعدت استمارات مناسبة لطلب التسجيل. معظم الدول تعتمد على دلائل الطلبات والتى وضعت فى الاساس للمبيدات الكيميائية. من المشجع ان معظم الدول الاوربية سوف تضع وتطور برامج وتوصيات خاصة للتعامل مع المبيدات الميكروبية وتمشيا وتواكبا مع زيادة المنتجات والضغوط على مسؤلى التعامل مع وسائل مكافحة الافات. فى الناحية العملية تأخذ الدول الاوربية بعين الاعتبار كل اعتبارات ونصائح وبروتوكولات وكالة حماية البيئة الامريكية EPA.

جدول(١-٢): المبيدات الميكروبية المستحدثة فى الدول الاوروبية

Austria (not EEC)	
Bacillus thuringiensis ssp Kurstaki Bactospeine (Solvay) insecticide	Bacterial
Cyprus (not EEC)	
B. thuringiensis ssp. Kurstaki Bactospeine (Solvy) insecticide	Bacterial
France	
Agrobacterium radiobacter Galeine A (Corvagi) antagonist	Bacterial
Arthrobotrys irregularis Royal Champignon 350 (Royal Champignon) nematicide	Fungal
B. thuringiensis ssp. Kurstaki e.g.. Dipel (Abbott). Thuricide HP and SC (Sandoz) Bactospeine (Solvay) insecticide	Bacterial
B. thuringiensis ssp. Israelensis e.g.. Vectobac (Abbott). Tcknar (Sandoz). Bactiomos(Solvay) insecticide	Bacterial
B. thuringiensis ssp. Aizawai B- 401 (Sandoz) insecticide	Bacterial
Trichoderma viride phior P (Orsan) fungicide	Fungal
Greece	
B. thuringiensis ssp. Kurstaki e.g.. Dipel (Abbott). Thuricide HP (Sandoz) Bactospeine (Solvay) insecticide	Bacterial
B. thuringiensis ssp. Israelensis Taknar (Sandoz) insecticide	Bacterial
Italy	
B. thuringiensis ssp. Kurstaki e.g., Bactucide (CRC), Dipel (Abbott), Bactospeine (Solvy) insecticide	Bacterial
B. thuringiensis ssp. Israelensis e.g., Bactis (CRC), Vectobac (Abbott). Taknar (Sandoz), Bactimos (Solvay) insecticide	Bacterial
B. thuringiensis ssp. Aizawai B- 401 (Sandoz) insecticide	Bacterial
The Netherlands, Belgium, Luxembourg	
B. thuringiensis ssp. Aizawai B- 401 (Sandoz) insecticide	Bacterial
B. thuringiensis ssp. Kurstaki e.g. Dipel (Abbott).	

تابع جدول(١-٢): المبيدات الميكروبية المستحدثة فى الدول الاوروبية

Thuricide HP (Sandoz), Bactospeine (Solvay) insecticide	Bacterial
B. thuringiensis ssp. Israelensis Bactimos (solvay) insecticide	Bacterial
Spain and Portugal	
B. thuringiensis ssp. Kurstaki e.g., Diple (Abbott), Thuricide HP (Sandoz), Bactospeine (Solvay) insecticide	Bacterial
B. thuringiensis ssp. Aizawai B- 401 sandoz) insecticide	Bacterial
B. thuringiensis ssp. Israelensis Bactimos (Solvay) insecticide	Bacterial
U.K.	
B. thuringiensis ssp. Aizawai B- 401 (Sandoz) insecticide	Bacterial
B. thuringiensis ssp. Kurstaki e.g., Dipel (Abbott), Thuricide HP (Sandoz), Bactospeine (Solvay) insecticide	Bacterial
B. thuringiensis ssp. Israelensis e.g., Teknar (Sandoz), Bactimos (Solvay) insecticide	Bacterial
Neodiprion sertifer NPV Virox (Oxford Virology) insecticide	Viral
Trichoderma viride Benab T (Bio- Innovation) fungicide	Fungal
Verticillium lecanii e.g., Mycotal and Vertalec (no current producer) fungicide	Fungal
Federal Republic of Germany	
B. thuringiensis ssp. Kurstaki e.g., Dipel (Abbott), Thuricide HP (Sandoz) insecticide	Bacterial
B. thuringiensis ssp, Kurstaki Pyrethrum Celamerck "Natural Insecticide" insecticide	Bacterial
B. thuriniensis ssp. Israelensis Teknar (Sanndoz) insecticide	Bacterial

ثالثا: متطلبات التسجيل واعتبارات الامان للوسائل الميكروبية فى مكافحة الافات فى روسيا الاتحادية وبعض الدول المجاورة

هذا الموضوع له شقان الاول ان الضمان العلمى مطلوب عن الامان الصحى والبيئى لوسائل المكافحة الميكروبية وفاعليتها بالمقارنة بالمبيدات الكيميائية ضد الافات المستهدفة. الشق الثانى يتضمن ضرورة اعتبار الاسئلة المثارة والتى قد تصل لحد المحاكمة كما فى معايير مستحضرات هذه المركبات المتميزة وضمانات السماح باستخدامها والرؤى عن مراجعة التسجيلات الرسمية عند الضرورة. فى الوقت الذى يكون تأثير المبيدات الكيميائية على الانسان والطبيعة ذات اهتمام كبير فان موضوع المبيدات الميكروبية مسألة وقت. التطور السريع فى التكنولوجيا الحيوية تقدم لنا ليس فقط تنوع الوسائل الميكروبيولوجية فى حماية المزروعات ولكن المواد البيولوجية وثيقة الصلة كذلك بما فيها منظمات النمو الحيوية bioregulators والهورمونات والمضادات الحيوية. تنامى الدلائل من البحوث والدراسات المكثفة التى اجريت بواسطة العديد من العلماء جعلت من السهولة والوضوح بوجه عام ان الكائنات الدقيقة الممرضة للحشرات اكثر امانا على الانسان وعلى الكائنات غير المستهدفة (NTO,s) بالمقارنة بالوسائل الكيميائية فى المكافحة. قد يؤدى الانتاج الكبير والمكثف لهذه المبيدات الكيميائية والتطبيق المكثف الى حدوث مخاطر على صحة الانسان والحيوان تحت بعض الظروف والتى لا تتوفر مع وسائل المكافحة الميكروبية. لقد برزت انتقادات تقول انه يجب تركيز كل الجهود لاحلال الكيميائيات التقليدية بالمركبات الميكروبية.

السبب الرئيسى للاعتبار الاخير للمركبات الاقل ضررا عن المركبات الكيميائية تتمثل فى التخصصية العوائلية وفى تتابع عمليات الحصول على الممرضات على الحشرات فى عوائل خاصة. بالاضافة الى ذلك فان خصائص التخمر ومتطلبات الحرارة المناسبة لممرضات الحشرات تميزها بشكل كبير عن الكائنات الدقيقة للحيوانات ذات الحرارة الثابتة homeothermic وفى الاجسام التى يصعب توقع نمو وتطور الممرضات متغيرة الحرارةpoikilotherms فيها. فى النهاية وحيث ان الكائنات الدقيقة بوجه عام وممرضات الحشرات فى الموقف الراهن تعتبر من بين العشرة الاف myriad ومكون للنظم البيئية الطبيعية والتى من خلالها تعمل الحواجز البيولوجية تمنع تشبعها وكذلك فان الانتاج الكثيف فقط يصبح مجديا بعد العزل"لانه يبدو ان

التطبيقات الحقلية الثقيلة سوف تؤدى الى تأثيرات ايكولوجية معاكسة كبرى للنوع الذى يتبع الرش الكثيف للمحصول والغابات مع المبيدات الكيميائية المخلقة الثابتة".

☑ **الطلبات العلمية المسبقة عن امان المبيدات الحشرية الميكروبية لمكافحة الافات الحشرية:**

(أ) متطلبات الصحة خلال انتاج المبيدات الحشرية الميكروبية:

الجدال او النقد الاساسى الذى فى صالح الوسائل الميكروبية فى مكافحة الافات الحشرية كما ذكر اعلاه يتمثل فى التخصص العوائلى واختيارية الهدف. إستخدام هذه الوسائل يشبه التنقيب rifle لانقاذ ضحية بدون احداث اى ضرر على ما حوله كما تحدث الطلقة النارية shotgun blast. هذا المفهوم لا يميز الاهمية الفائقة للربط بين الامان والفاعلية بخصوص اى منتج حيوى. من المثير ايضا ان من يتلامسون يوميا مع ممرضات الحشرات من خلال اشتراكهم فى تصنيع هذه المنتجات بعيدين كثيرا عن التعرض لهذه الميكروبات عما هو الحال مع مجموع البشر او هؤلاء الذين يستخدمون المركب فى التطبيق الحقلى الفعلى لهذه النوعية من الوسائل الجديدة المماثلة.

حماية الصحة لمواطنى الاتحاد السوفيتى بما فيهم كل الافراد المشتركون فى مكافحة الافات الحشرية ذات الاهمية الزراعية تمثل الاعتبار الهام بالنظر للتطوير والاستخدام العملى لوسائل المكافحة الحيوية وثيقة الصلة فى روسيا. لذلك فان تحليل البحث الابتدائى يتقدم بشكل متواصل فى اتجاه كل مجموعة او سلالة فردية من مسببات الامراض الحشرية والتى تعمل كاساس للمنتجات المناظرة. هذه التحليلات تشمل كل ناحية من التتابعات الممكنة للانسان فى توافق كامل وشامل لكل احتياجات الطب المعاصر. من نواحى السرور ان نقرر ان نتائج العديد من التجارب تجرى حول العالم وقد تأكد اليوم ان مستحضرات الفيروس والبكتيريا لا تملك اى خطورة على الناس بالاضافة الى ذلك فانه بينما بعض المنتجات الفطرية تحدث حساسية ابتدائية فى بعض الاحيان فان الفطريات الممرضة للحشرات بوجه عام ليست ضارة كذلك. من بين ممرضات الحشرات والتى تعتمد على الميكروبات فى وسائل المكافحة تبنى على الباسيلليس ثورينجينسيز. الانتاج الصناعى للمستحضرات التى تعتمد على هذا الكائن الدقيق تطور وتقدم خلال العقود الثلاثة الماضية وحتى الان دون اى ضرر على

الانسان (الا ان امكانية التغيرات الطفرية فى البكتيريا قد تحدث فى اتجاه غير مرغوب وهذا يبقى تحت التدقيق والنظر).

التلوث البيئى بسبب التطبيق الحقلى للباسيلليس ثورسنجينسيز تؤخذ فى الاعتبار وفى الحقيقة فان وكالة حماية البيئة الامريكية EPA ألغت الاحتياجات المبكرة لكميات كبيرة من هذا الكائن فى المنتجات الزراعية. البقايا الفعلية على النباتات بعد استخدام الباسيلليس ثورينجينسيز كانت ٢ مللجم/كجم من كتلة النبات وفى خلال اسبوع تنخفض هذه القيمة بمقدار٢- ٣ مرات. هذه التركيزات تحت المستويات التى اعلنتها هيئة الصحة العالمية WHO والتى لها تأثيرات صحية (هذه القيم تحمل فى طياتها ٥٠ مرة عامل امان) لذلك لا تكون هناك حاجة لوضع قيم قياسية خاصة للامان البيئى. نفس التوجه ينطبق ويطبق على الممرضات الحشرية الفيروسية التى درست حتى الان.

سواء كان عدم الضرر او حدوث الضرر لمستحضرات الفيروس او البكتريا من الامور المطلقة فان البحوث تتناول دراسة كل سلالة جديدة معزولة تحت الاعتبار من منطلق التعامل معها كما فى المنتجات الحيوية للمكافحة وتصل لمرتبة الضرورة. فى هذا المقام فان مشكلة التطبيق العملى للبيتا ـ اوكسى توكسين من الباسيلليس ثورينجينسيز سوف نشير اليه باختصار شديد. فى اواخر السبعينات تم اجازة اجراء بحوث مكثفة وتطبيقات حقلية للبيتوكسى باسيللين bitoxybacillin (الذى يحتوى على ٠,٦ – ٠,٨% البيتا- اكسو توكسين فقط) فى الاتحاد السوفيتى انذاك. بعدئذ تم تطوير مستحضرات اضافية تتكون من البيتا ـ اكسو توكسين فقط، ١% فى حالة الثورنجين Turingen و١٠% فى الثورنجين ـ ٢. لقد طال انكار تسجيل هذه المنتجات فى الولايات المتحدة الامريكية وبعض الدول الاخرى ولكن بحلول ١٩٨٣ اقترح البحاث الامريكان قبول هذه المستحضرات كما فى حالة ABG- 6146 التى تحتوى ٥٥% بيتا- اوكسى توكسين شريطة ان تكون نواحى الامان وثيقة الصلة بالمركبات الاخرى. مرة اخرى طالت التجارب والاختبارات بواسطة الباحث كارلبيرج واخرون والتى اوضحت الامان الحقلى للبيتار اوكسى توكسين. لقد قام Muskabac بانتاج مستحضرات تحتوى على البيتا ـ توكسين والتى اصبحت شائعة فى رومانيا (تورينتوكس Turintox) وفى ايطاليا (اكسوباك Exobac).

(ب) تأثيرات منتجات مكافحة الافات الميكروبية على النباتات:

معظم المنتجات الميكروبية لمكافحة الافات تستخدم ضد الافات الحشرية التى تصيب النباتات عن طريق الرش والنباتات هى اول كائن غير مستهدف NTO's يستقبل هذه الوسائل الحيوية. لذلك فان التأثيرات الضارة على النباتات phytotoxicity (المقدرة على احداث حروق... الخ) لكل المستحضرات الميكروبية الجديدة ضد الحشرات يجب ان تقيم بعناية. اية تأثيرات ضارة تحدث تستتبع بالضرورة تحويرات مناسبة للمنتجات هذه اوحتى التخلى عنها.

(ج) تأثيرات المنتجات الميكروبية لمكافحة الافات على اكلات الحشرات Entomophaga ونحل العسل:

المشكلة هنا تتمثل فى امكانية حدوث ضرر على الحشرات النافعة القريبة الارتباط بالعوائل المستهدفة من ممرضات الحشرات الخاصة. او ان هذه الممرضات الاخيرة على الكائنات غير المستهدفة NOT's تعكس كمثال غياب المقدرة الانزيمية لتحويل السم الاولى protoxin لبكتريا باسيلليس ثورينجينسيز الى السم الاصيل او المقدرة على اذابة البولى هيدرا (مع تحديد الفيروس بالتبعية Virion) فى عصارات المعدة بالاضافة الى ذلك فان طريقة تغذية الكائناتNOT's وطبيعة غذائها وظروف النمو والتطور النباتى"الفينولوجى phonological" وانواع عريضة من العوامل الحيوية وغير الحيوية جميعها تؤثر على اختيارية ممرضات الحشرات والمبيدات الحشرية الميكروبية التى تعتمد عليها.

رمزية العلاقة الخاصة shotgun/rifle ما زالت ذات صلة وثيقة بالموضوع على عزار ما تم تناوله قبلا. بينما استخدام مبيدات الافات الكيميائية يضر بكلا "الملائكة والاشرارSaints and Sinners" فان استخدام الوسائل الميكروبية او الحيوية ذات التخصص العالى فى المكافحة مثل بيتوكسى باسيللين كمثال على البطاطس ضد خنفساء كلورادو البطاطس او على القطن ضد دودة كيزان الذرة لا يسبب اية اضرار على اكلات الحشرات التى توجد فعلا على هذه النباتات. ليس معروفا الان ان اية مسستحضرات باسيلليس ثورينجينسيز تسبب تأثيرات معاكسة على اشباه الطفيليات الحشرية والمفترسات والملقحات. معظم تحت انواع ممرضات الحشرات تحطم فقط وبشكل نسبى عدو من انواع الافات الحشرية ومن ثم فان المستوى المقبول من

الاختيارية يمكن ان ينظر اليه فى هذا المقام. نفس الكلام ينطبق على المبيدات الحشرية الفيروسية. يجب التنويه الى ان هذه المعلومات عن نواحى الامان للمبيدات الحشرية الميكروبية تبنى ليس فقط على الخبرات المكتسبة من جراء استخدام الجرعات الموصى بها ضد الافات النباتية من حرشفية الاجنحة ولكن كذلك من خلال نتائج التجارب عن تعرض اكلات الحشرات ونحل العسل لجرعات كبيرة. يجب التنويه كذلك ان الخفض الحاد فى حدوث الافات الحشرية على النباتات بسبب المكافحة الميكروبية الناجحة سوف تحدث خلل فى مجموع اكلات الحشرات والطفيليات التى تحد من اعداد الافات. الخطة المقترحة للقضاء على الافات التى تضر بالنباتات phytophagous يجب الا تبنى على تقليل توفر العائل وامدادات الغذاء للحشرات النافعة. تفاعلات السلسلة الناتجة التى تخفض اعدادها يجب الا تخطئ التأثير القاتل المباشر من جراء استخدام مواد المكافحة الميكروبية.

تأثير المنتجات الميكروبية لمكافحة الحشرات على الاسماك وكائنات التغذية لها:

هذه التأثيرات تنتج من جراء نوعين مميزين من الاسباب الاول الانجرافdrift من رش المواد الميكروبية بالطائرات ضد افات المحاصيل حيث يمكن ان تلوث الماء القريب. الثانى يتمثل فى ان مواد المكافحة الحيوية (فى هذا الوقت الباسيلليس ثورينجينسز تحت النوع اسرائيلينسيز= الضرر السيرولوجى H-14) قد تستخدم مباشرة للمواقع المائية ضد البعوض والذباب الاسود وغيرها من ناقلات الامراض. فى اوربا الشرقية والاتحاد السوفيتى انذاك اظهرت الاختبارات المكثفة على ممرضات الحشرات entomopathogens التى تمثل مجاميع متفاوتة من الكائنات الدقيقة عدم بقائها فى انسجة الاسماك. لذلك فان تطور وادخال هذه الوسائل فى التطبيق العملى مثل المركبات المعروفة باكتوكوليسيد Bactoculicid (فى روسيا) وموسكيتير Moscitur (فى تشيكوسلوفاكيا) حقق الفرصة لاجراء دراسات عميقة عن الباسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع اسرائيلينسيز فى البيئات المائية ولكن مرة اخرى دون ظهور اية اخطار على الاسماك والاحياء التى تتغذى عليها جنبا الى جنب مع يرقات البعوض والهاموش. التقلبات فى مجاميع الاحياء غير المستهدفة NTO فى الماء حيث استخدمت هذه المنتجات تعكس ظاهرة الهجرة والتقلبات الموسمية.

خلاصة القول انه اعتمادا على الجودة الخاصة للوسائل الميكروبية فى المكافحة فانها يمكن ان تستخدم باسلوب الاغراق inundatively (كما فى حالة الباسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع اسرائيلسينيز) او اسلوب التلقيح او التطعيم inoculatively (كما فى حالة الكائنات الدقيقة التى تستخدم حية ومن ثم تستقر فى مجموع العائل المستهدف). فى الحالة الاخيرة فان استخدام الممرضات الحشرية يمكن ان يفكر فيه لخلق امراض وبائية حيوانية epizootics. كذلك فان تتابعات المعاملة للجيل المبكر من الانواع المستهدفة بالمبيدات الحشرية الميكروبية يمكن ان تستغل من خلال تطبيقات اخرى اختيارية. سوف نتناول هذا التوجه والاسلوب فى مواضع لاحقة من هذا الكتاب.

تسجيل الوسائل الميكروبية فى مكافحة الافات فى اوروبا الشرقية والاتحاد السوفيتى:

لقد كانت دول اوربا الشرقية والاتحاد السوفيتى انذاك اكثر اهتماما بكل ما يخص جودة البيئة وكل حكومة من حكومات هذه الدول وضعت التشريعات المناسبة حيث كانت تفاصيلها تختلف من دولة لاخرى. لقد كان فى المانيا الشرقية فقط فى ذلك الوقت قوانين فورية متشددة بدأ تنفيذها عام ١٩٧١. فى الدول الاخرى من المنطقة كانت الامور المتعلقة بجودة البيئة من مسئوليات مختلف هيئات الدولة وكانت مكافحة الحشرات الضارة بما فيها استخدام الوسائل الميكروبية يتم تحت مظلة مسئولى الزراعة مع مكاتب اتصال دائمة بالسلطات الطبية. المجلس المشترك للمساعدات الاقتصادية (CMEA) تنسق وتوحد المجهودات الفردية وثيقة الصلة من قبل البلدان والاعضاء فى اوربا الشرقية والاتحاد السوفيتى ولذلك فان التداخلات الاقليمية تنسق خلال مجلس يمثل كل البلدان المشتركة فى المنطقة فىاتجاه الكشف عن انواع جديدة من المبيدات وتطوير وسائل حيوية وغيرها لحماية النباتات وتحفيز الدراسات التى تستهدف ايجاد الطرق التى تحسن حماية البيئة. بوزنان فى بولندا هى مكان مركز الادارة للمركز المشترك، كذلك كان معهد البحوث العلمية فى برايتسلافار تشيكوسلوفاكيا.

هذين المجلسين يقوما بالتنسيق معا عند مجابهة اى مشكلة فيما يتعلق بمعايير الامان الصحى والبيئى للمبيدات الحشرية الحيوية وكذلك توجيه المراحل المتتابعة عن الوقوف على التأثيرات الممكنة لوسائل المكافحة الميكروبية على الناس من الناحية العملية تتضمن:

١- بحوث ودراسات عن العدوى الاولية وسمية ممرضات الحشرات وسمية المستحضرات التى تعتمد عليها وكذلك اجراء دراسات ترتبط بالجرعة وتوقيت التطبيق والفاعلية.

٢- وضع المعايير القياسية الصحية المرتبطة بالثبات البيئى لهذه المستحضرات.

٣- تحسين المتطلبات الصحية فيما يتعلق بتصنيع المركبات وثيقة الصلة التى تعتمد على الفيروسات المرضية على الحشرات والتوكسينات الميكروبية.

هذا البرنامج لا يستهدف فقط القاء الضوء ودراسة وتوضيح الاضرارالمباشرة للعدوى والسمية على الانسان من جراء التعامل مع جميع المستحضرات الحيوية ولكن تعريف مدى الاخطار الممكنة التى تنشأ من الطفرية والسرطانية وغيرها. كذلك يقدم البرنامج فرصة لعلماء المانيا وبولندا للتعاون والتنسيق (اخذين فى الاعتبار اراء العلماء فى الدول الاخرى) ووضع المعايير الصحية لتسجيل مبيدات الافات الجديدة فى دول اوربا الشرقية ويوغوسلافيا. كى نتفهم جيدا خطوات تسجيل المبيدات الحشرية الميكروبية فى المنطقة يكون من المفيد وصف طريقة استكمال المتطلبات وثيقة الصلة فى الاتحاد السوفيتى آنذاك والتى تستخدم انواع عريضة بشكل كبير ومسميات عريضة للمبيدات الحشرية الحيوية،بين كل دول المعسكر الاشتراكى فى ذلك الوقت.

لقد كانت كل التساؤلات عن جودة البيئة وما يتعلق بها تحت المسئولية المباشرة والفورية والسيطرة من قبل الحكومة السوفيتية. لقد كان الاساس التشريعى لهذه السلطات هو القانون (١٨) للدستور السوفيتى والذى وضع اساس صلب لحماية الطبيعة من خلال الاعلان enunciating عن الاساسيات الواضحة للادارة والتطور العلمى لحماية الطبيعة. الهياكل الحكومية المسئولة تم تنظيمها من منطلق تجهيز ونشر الوثائق التى تعتبر اساسية للتشريع المناسب الخاص بتطبيق الوسائل الحيوية ضد الحشرات الضارة. بعض من هذه الوثائق تصور حماية جودة البيئة من خلال رؤى البدائل للملوثات الكيميائية من المبيدات فى مقابل المنتجات الميكروبية للمكافحة عن طريق التكنولوجيا الحيوية المناسبة.

فى هذا المقام قامت هيئات الاتحاد السوفيتى فى ذلك الوقت بتوسيع دائرة الاتصالات الدولية على كل مستويات الدول وكذلك المستويات الدولية الواسعة. مثال ذلك ان العلماء السوفيت كانوا يلعبون ادوارا نشطة تجاه تحقيق اهداف البرنامج الدولى.

لقد طرحت اسئلة عديدة تحت مظلة" الانسان والمحيط الحيوى Man and biosphere" والتى ترتبط بالبرامج الدولية يتم تناولها بواسطة سجلس العلماء التابع للمجلس الاعلى للاكاديمية العلمية فى الاتحاد السوفيتى. كذلك يجدر التنوية بان روسيا كانت تلعب دورا فعالا كجزء من برنامج الامم المتحدة للبيئة (UNEP) والمنظمة الدولية عن المكافحة الحيوية (IOBC). لقد كان للاتحاد السوفيتى دورا رائدا فى تطوير وغرس قانون يمنع اية تأثيرات عكسية او من مسببات ضارة اخرى على الطبيعة والذى تم تطويره من خلال قانون المجلس الاعلى للسوفيت فى ١٦مايو عام١٩٨٧. بالاضافة الى ذلك طلب من اللجنة المركزية للانتاج الزراعى (الجوساجروبروم Gosagroprom) للاشراف على القانون وتصحيح خطوات المكافحة الكيميائية والحيوية فى الزراعة بينما يكون مطلوب الحصول على تصريح او اذن فعلى يسمح باستخدام المبيدات الحشرية الميكروبية من مهام مسئولى ومتخذى القرارات المشتركة فى مكاتب وهيئات مختلفة.

فى البداية يتم بحث طلبات انتاج مستحضرات ممرضات الحشرات بواسطة اللجنة المسئولة عن الوسائل الميكروبية فى حماية المزروعات. كل هذه الاجراءات فى جميع الاتحادات تتبع مهام الاكاديمية الزراعية والتى تحمل الاسم V.I. LENIN وتمثل جزء من الجوساجروبروم كما ذكر سابقا. كل الطلبات التى تقدم لهذه اللجنة تؤخذ فى الاعتبار تحت"قواعد فحص المستحضرات والسلالات الجديدة". تقوم اللجنة بتقييم كلا فوائد المنتجات المقدمة من منطلق فاعليتها ضد الحشرات الضارة وملاءمة البيانات المقدمة من حيث امانها على الانسان وغيرها من الكائنات غير المستهدفة NOT's.

بمجرد وصول الخبراء المعنيون من قبل اللجنة المسئولة عن الوسائل لحماية المزروعات لقرارات واستنتاجات معينة يتم تحويل وارسال الكائن الدقيق محل التساؤل الى مراكز البحوث المتخصصة (مرفق بالوثائق المطلوبة) لاجراء دراسات تفصيلية من جميع النواحى على الميكروب وتأثيراته الصحية والبيئية. هذه المراكز تشمل:

١- **المعهد الاتحادى للنواحى الصحية والسامة للمبيدات والبوليمرات** التابع لوزارة الصحة السوفيتية (انذاك) والذى يقع فى كييف. هذا المعهد هو الاساس الذى يقوم باجراء الدراسات لتحديد امان وسائل المكافحة الميكروبية على صحة الانسان وغيره من الثدييات متجانسة الحرارة Homeotherms فى كلا المرحلتين التصنيع وفى الاستخدام العملى. يقوم الخبراء بتوجيه كل عينة تحت الاختبار الى القسم المناسب

لاختبارات السمية فى روسيا والتى تعرف بالقياسية تحت عنوان"الامان الحيوى biological security " وتحديد اقصى تركيز مسموح به فى جو مصنع هذه المستحضرات الميكروبية. الاستنتاجات تتبع التجارب الخاصة بالسمية الحادة والمزمنة على حيوانات التجارب لتحديد التأثيرات المعاكسة الممكنة على ممرضات الحشرات او منتجات المكافحة الميكروبية المشتقة منها تحت مختلف ظروف التعرض مثل الفم والمعدة والانف والجو وغيرها من الطرق بما فيها الجلد والعيون. يقوم العلماء كذلك بدراسة الحساسية والسمية على الاجنة embrytoxicity والالتهابات...الخ. معهد دراسات الامراض الوبائية epidemiology والميكروبيولوجية والمرضية والمعدية infectious (تحمل الاسم L.V. Gromashevsky ويقع فى كييف) مسئول بوجه خاص لتقييم الفيروسات الممرضة للحشرات.

٢- **المعهد القومى الاتحادى لبحوث الطرق الحيوية لحماية المزروعات** (وتقع فى كيشينيف Kishinev) وكذلك المعهد العلمى لبحوث وقاية المزروعات فى بلوروسيا (يقع فى مينزك Minsk) وهما مسئولان بالاشتراك عن اختبارات الفاعلية لمستحضرات ممرضات الحشرات والمكافحة الحيوية ضد الحشرات التى تسبب ضرر اقتصادى اوناقلات الامراض.

٣- **معهد العلوم البحثية للمزارع السمكية** (يقع فى ازوف) يقوم باختيار مستحضرات ممرضات الحشرات والمكافحة الميكروبية ضد الاسماك.

٤- **معهد علوم النحل Apicul ture** (يقع فى ريازان Ryazan) والاكاديمية البيطرية فى موسكو معهد بحوث الحريرSericulture جميعها تشترك فى البحوث الخاصة بمعرفة الاضرار التى تسببها ممرضات الحشرات ومستحضرات المكافحة الميكروبية على النحل وديدان الحرير.

على المستوى الاوسع فان موجدات ومخرجات كل هذه المجاميع تنشر خلال العديد من جمهوريات الاتحاد السوفيتى انذاك وتأخذ مجراها ودورها فى الصناعة القومية. المقاييس القومية الروسية تتطلب ادخال متطلبات الامان فى هذا الاتجاه:

١- مدى مقبول من مستويات السمية فى توافق مع الامان الحيوى من بين مطالب الامان.

٢- مستوى مقبول من التركيز الأقصى لاى مبيد حشرى ميكروبى للاستخدام الحقلى.

٣- حماية كاملة لكل العاملين فى المبيدات الحشرية.

٤- اعفاء كل الافراد الذين عندهم تاريخ مرضى ينادى بعدم تشغيلهم فى او بالقرب من المبيدات الحشرية الميكروبية.

بالنسبة لاى مادة ميكروبية لمكافحة الافات يجب ان تقيم تبعا لهذه المتطلبات مع ضرورة تقديم وثائق تعضيدية تؤكد على امان هذه المركبات على صحة الانسان خلال عمليات الانتاج والتطبيق الحقلى وعدم تأثيرها على الصحة بحال من الاحوال. قوائم الاولويات تصل الجهات المسئولة موصفة و··ضوعة بشكل مناسب مع المعايير القياسية السوفيتية فى ذلك الوقت. هذه القوائم تؤكد على انه لا توجد اى ناحية من المركب سواء عند التطوير او ما يستتبعه من التطبيق الميدانى سوف تضر باى من المشتغلين فى بحوث المكافحة الميكروبية. الهيئات المسئولة تتضمن:

١- اى جهه تستخدم المستحضرات الحيوية الخاصة واى جهات تابعة للجوساجوربروم المشتركة فى التطبيق الحقلى.

٢- سلطات الاشراف والمجاميع المنبثقة عن مجلس الامان الصحى لجمهوريات الاتحاد السوفيتى حيث يتم انتاج المستحضرات الحية تحت التساؤل.

٣- كل المهتمين بنواحى الامان الصحى والبيئى خلال النقل من مكان الانتاج الى الحقول حيث تستخدم وسائل المكافحة الميكروبية الخاصة.

الجوساجروبروم Gosagroprum ومجلس الصناعة الدوائية والميكروبيولوجية مسؤل عن اعطاء الموافقة النهائية والسماح للتصنيع واستخدامات صلاحيتها تكون خلال فترة محدودة وفى العادة تكون خمسة سنوات. بالاضافة الى ذلك فان هذه المستحضرات التى ووفق عليها تتعرض باستمرار للمراجعة والتعديل عند الضرورة من نواحى الامان الصحى والبيئى.

كما فى حالة اى سلعة مصنعة فان انتاج أى مستحضرات حيوية يجب ان يتم ويجرى فى توافق وثيق مع نواحى ومتطلبات وقواعد ومعايير السماح (كما شرع من البداية او عدل رسميا) مع ضرورة ان تكون هذه الوثيقة صالحة وسارية المفعول. اى مخالفة لهذه المتطلبات تستوجب توقيع عقوبة شديدة على المخالف فى الصناعة تبعا للقانون.

الأن تأخذ اللجنة بعين الاعتبار كل البيانات التى ذكرت اعلاه مع الاقرار بكل ما يتصل بالامان الصحى والبيئى بداية من الدراسات المعملية الأولى على ممرضات

الحشرات محل التساؤل خلال مرحلة التصنيع وحتى الاختبارات الحقلية. هذا الهيكل ينظم الاختبارات على المستوى القومى خلال الافرع والمعامل التى تقع فى المناطق المختلفة فى الاتحاد السوفيتى. خلال مرحلة الاختبارات القومية تجرى على كل مبيد حشرى ميكروبى لتحديد الجرعة الفعالة وطريقة الاستخدام ضد كل افة حشرية مستهدفة. واحدة من المجاميع العديدة للخبراء (التى تتكون من اخصائى وقيادى وقاية المزروعات من بين اعضاء اللجنة القومية) يراجع ويشرف ويعزز هذا التقييم للمستحضرات الحيوية.

كلا اللجنتان او الهيئتان اللذان ذكرا اعلاه تكون ما يعرف "بالتشريع ذات المكونان Two Chambered legislature" حيث يتكون من الافراد ذوى الخبرة والتخصص المتميز حيث يكون واجبهم الرئيسى والاشراف على كل ناحية من تطوير وتصنيع والتطبيق العملى للمبيدات الحشرية والميكروبية ضد العزلة الاولى لكل سلالة مبشرة حتى التشريع الذى يؤكد امان وفاعلية المستحضرات الحيوية عند الاستخدام ضد الافات الحشرية.

يتم تحليل برنامج الاختبارات القومية بواسطة مجموعة اللجنة القومية عن المستحضرات الحيوية وتضاف تقارير الاجتماعات التى تم فيها قبول والموافقة على المبيدات الحشرية الحيوية ومنظمات النمو التى تستخدم ضد الافات الحشرية وامراض النباتات بشكل اقتصادى. القائمة التى صدرت وعمل بها من ١٩٨٦وحتى ١٩٩٠ تشمل المبيدات الحشرية والاكاروسية ومبيدات القواقع (اجمالى المركبات ١٠١) والمبيدات الفطرية (٦٧) والنيماتودية (١٢) ومبيدات القوارض (كيميائية ٩، حيوية٢) والمستحضرات الحيوية (١٩ سنتذكر بالتفصيل بعد) والفورمونات (٢) ومبيدات الحشائش (١٨٤) ومسقطات الاوراق (١١) ومنظمات النمو النباتية (٢٣). القائمة تشمل كذلك منتجات للاستخدام فى الصوب الزراعية وعلى النباتات ذات الاهمية الصيدلانية وعلى المنتجات الزراعية المخزونة. بالاضافة الى ذلك تشمل القائمة تعليمات عن التوقيت المناسب وعدد التطبيقات والجرعات القصوى/الدنيا على المستوى القومى العريض. هذه التعليمات واجبة الالتزام والتنفيذ بواسطة كل المعاهد العلمية البحثية التى تبحث على ايجاد وتطوير طرق التطبيق الخاصة بما يلائم الحاجة لمنطقة معينة ومشاكل معينة داخل المتطلبات القومية الواسعة.

تقوم اللجنة القومية بتأكيد القائمة فى تناسق مع وزارة الصحة فى الاتحاد السوفيتى انذاك واللجنة القومية عن الارصاد الجوية والمائية Hydrometeorology وجودة البيئة. هذه الوثيقة تمثل الوضع الرسمى الشامل التى يرجع اليها اى مسئول للتسجيل لكل المبيدات الحشرية الميكروبية من بين العديد من المركبات الاخرى توافقا مع كل التشريعات القومية ومعايير الاستخدام الفعال. لقد نشرت القائمة فى مجلة وقاية المزروعات وتراجع سنويا على امتداد خمسة سنوات للوقوف على استمرارية صلاحيتها او حاجتها للتعديل. المراجعة النهائية تؤكد ان ما يليها قد استكمل واخذ فى الاعتبار كل المستجدات من خلال الاختبارات التى اجريت منذ صدور القائمة.

كما ذكر سابقا فان القائمة التى صدرت فى ١٩٨٦ حتى١٩٩٠ تشمل ١٩ مستحضر حيوى. لقد ظهرت اثنتان من هذه المنتجات تقع فى مرتبة مبيدات القوارض ولا تقع داخل التشريع. لذلك فان ٤ من بين ١٩ مستحضر حيوى يشار اليها على انها طورت ضد المشاكل المرضية النباتية القائمة ١٩٨٦ حتى١٩٩٠ تشمل ١٥ مادة ميكروبية للمكافحة طورت حقيقيا ضد الافات الحشرية نذكرها فيما يلى:

١- مستحضرات البكتيريا: بيتوكسى باسيللين، ونور باسيللين (سلالتان)، ليبيدوسيد، اندوباكثيرين، جوميلين، BIP (صنفان)، باكتوسبين، ديبيل.

٢- مستحضرات فيروسية (٦ منتجات)

٣- مستحضرات فطرية (بوفيرين)

يسبق الموافقة على استيراد المبيدات الحشرية الميكروبية والتصريح باستخدامها فى الاتحاد السوفيتى انذاك تقييم من قبل الخبراء واجراء اختبارات محددة. لقد شارك مؤلفوا هذا الكتاب الاصلى فى اجراء هذه الاختبارات وتحليل النتائج على مركبات الباكتوسبين والديبيل وبعدها تم السماح باستخدام هذين المركبين على المستوى القومى. لقد اتبعت خطوات مشابهة فى روسيا على المبيدات الحشرية الميكروبية للاستخدام ضد الحشرات ذات الاهمية الطبية على نفس المنوال كما اتبع مع الحشرات التى تضر بالمحاصيل الزراعية والغابات. هذا العمل يقع تحت مسئولية اللجنة التشريعية المنوط بها العمل على مكافحة ناقلات الامراض فى وزارة الصحة السوفيتية انذاك. تجتمع هذه اللجنة اربعة مرات سنويا للنظر فى الطلبات المعدة من الجهات المختلفة التى تريد تطوير مستحضرات حيوية للاستخدام العملى. بمجرد الحصول على

تأكيد لجنة الخبراء بمبيد حشرى ميكروبى امن وفعال فانها تقر وتوافق على تطوير نموذج لكل طرق الاختبارات المطلوبة (حيث تتم الموافقة على الهيئات المشاركة ومجموعة العمل البحثى بواسطة الوكالة او اللجنة). بعد اجراء الاختبارات وتقييم النتائج يتم ارسال طلب اخر للجنة يتضمن هذه المرة تصنيع المستحضر الحيوى بكميات تجارية وكذلك التصريح باستخدام هذا المنتج فى الحقل (ما اذا كان المركب سيستخدم بالرش الجوى او الارضى يتم تقريره لاحقا بشكل منفصل). يقوم خبراء اللجنة بفحص خطوات الاختبارات المقترحة والاشتراك فى تجهيز الوثائق التى تعرف المعايير والطرق القياسية مع التركيز على النواحى الخاصة بالامان على الانسان وغيره من الاحياء متساوية الحرارة.

الخطوة الثانية تعنى اللجنة الخاصة بالتشريع لاقرار الاذن الممنوح وتوثيقه ولكى يصل الموضوع للنهاية يضطلع مكتب اخر تابع لوزارة الصحة السوفيتية بتجهيز الاذن المناسب على صورة امر من مجلس الصحة العامة. هذا الامر يشمل طلبات خاصة تتعلق بطرق التقدم وبعد الاعلان عن المستحضر الحيوى تحت التساؤل يتم تجهيزه للاستخدام ويضاف الى قائمة المبيدات الحشرية (بما فيها المبيدات الميكروبية) حتى يوافق عليه الاستخدام فى مجابهة الحشرات الطبية. هذه الوثيقة الخاصة بالتسمية هى الوثيقة الرسمية الاساسية التى تنشر تحت مسؤلية ومن خلال السلطات المخولة لمكتب الكيمياء الرئيسى وهيئة الصحة العامة فى الاتحاد السوفيتى سابقا والوثيقة تكافئ القوائم الاخرى التى ووفق عليها والخاصة بالمستحضرات التى تستخدم فى حماية المزروعات وفى الاغراض الطبية كما تحدد الوثيقة الفقرة التى تحقق حماية النباتات بعد التطبيق. هناك فقرات خاصة فى القوائم تتناول استخدام هذه المبيدات الحيوية فى الحشرات الطبية تتضمن كل وسائل الامان على العمال الذين يعاودون الحقول بعد استخدام الممرضات الحشرية والمنتجات المشتقة منها. فى النهاية نص التشريع على ضرورة وضع عدد من الوثائق عن احتياطات الامان الواجب اتباعها عند التداول وقبول الدخول فى بيئة المبيدات الحشرية بما فيها المركبات الميكروبية.

خلاصة القول ان تسجيل المبيدات الحشرية الميكروبية فى هذا التناول قد لا تكون خاطئة على طول الخط ولكنها فعالة وكافية فى وقتنا هذا ويبدو انها ستستمر كذلك فى المستقبل بسبب مرونتها والقيود المفروضة عليها. فى المقام الاول فان حركة

وديناميكية هذه المواد تسمح بالتصويب السريع وتعديل خطوات العمل بهذه المستحضرات. الثانية ان الامان يتأكد عن طريق تعريف حدود التحمل بدقة عبر التعبير عن تطوير المركب وتصنيع مستحضراتة وحتى كل نواحى التطبيق الميدانى. مع هذا يجب توخى الحذر والحرص فى كل مجالات الحياة مع التتابع السريع فى تطوير التكنولوجيا الحيوية وهى سمة القرن والتى تمتد الى كل مناحى الصناعة. الكائنات الدقيقة التى اعتبرت لقرون بعيدة عن مناحى الحياة الحقيقية من النواحى الايجابية تتلقى الاان فرصة تاريخية غير متوقعة. هذا يزيد من المخاوف ولو من الناحية النظرية من ان التضاعف الصناعى و/او اعادة تركيب الكائنات الدقيقة سوف تؤدى الى تتابعات معاكسة على صحة الانسان والبيئة. بوجه خاص فان الكائنات المهندسة وراثيا يجب ان ينظر اليها على انها مواد اكثر خطورة عن المبيدات الكيميائية المخلقة بسبب ان بعض المستحضرات ذات الجودة الضارة سوف تتضاعف وتنتشر فى الطبيعة. هذه الانتقادات يجب ان تؤخذ فى الاعتبار مع ضرورة استمرار مكافحة الافات.

REFERENSES

Anon., Chemical and Biological Means of plant protection, Refrence book of Soviet normative- technical documents, international and foreign standards and bibliographical information, Moscow. 1985 (Russian).

Bykov, B. A., to work in a new way, creatively, Biotechnology, 3 (9)1, 1986 (Russian)

Guli, V. V., Talpalacky, P. L., and Rybina, S. U., the influence of the standard microbial insecticidal preparation on honey bees, Bull. Siber. Res. Inst. Microbiol., 17. 1, 1974 (Russian).

Kadar, B. A., Achievemnts of biotechnologyfor the benefit of man, Int. Agric. J., 4, 3, 1986 (Russian).

Larsky, P. P., Dermova, V. P., and Brinkman, L. I., medical disinsection, *Medicine*, 1985 (Russian).

Mursa, V.I., Information substantiating the maximum permissible concentration of bacterial insecticides in the industrial atmosphere. Current health problems in the use of pesticides, in *Proc. 5th All-Union Sci.Conf.*, Kiev, 1975 (Russian).

Ogarkov, V. I., the basic biotechnologicalo problems of the microbial industry, *Biotechnology*, 4 (10) 1, 1986 (Russian).

Porchachevskaja, O. A., the means of protection of the individual in agriculture, plant Prot Oversaes Rev., 12, 60 1987 (Russian).

Rosanovskaja, N., International cooperation on health aspects of pesticide use, *Int. Agric. J.*, 1, 64, 1983 (Russian).

Sidorenko, G. I., International health cooperation, *Hyg. Sanit.*, 5, 4, 1982 (Russian)

Talanov, G. A., Tonkonogenko, A. P., and Karavaeva, T.M., Investigation of the effect of the thermostable exotoxin of entomopathogenic bacterial on warm- blooded animals, *Prob. Vet. Health (Moscow)*.43, 170, 1972 (Russian)

Vasiljeva, V, L. and Gural, A. I., Present and possible future problems of the use of entomopathogenic viruses for plant protection, *Mol. Biol. (USSR)*. 22, 7, 1979 (Russian).

Weiser, J., Registration of bioinsecticides in CSSR, manuscript, 1987.

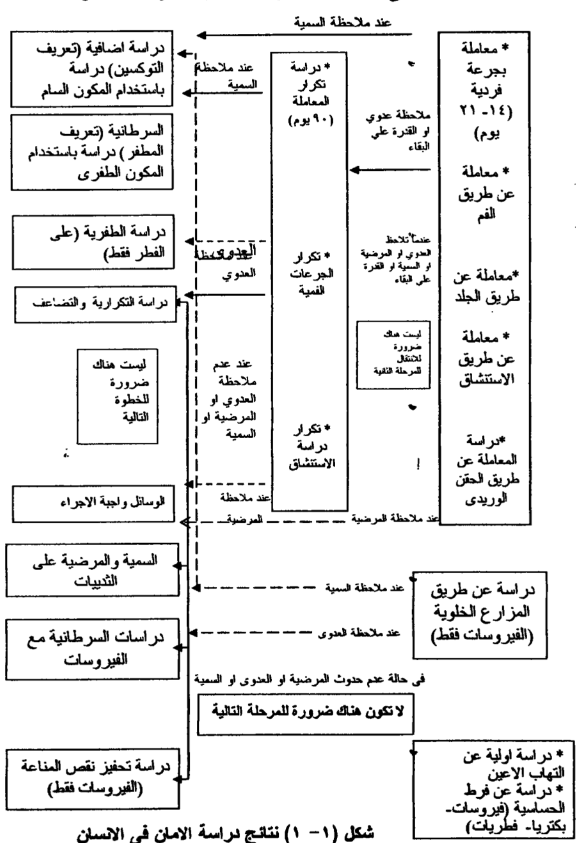
رابعا: متطلبات تسجيل واعتبارات الامان لوسائل المكافحة الميكروبية فى اليابان

فى مقالة للباحث shigeru kimuro بقسم البيولوجى مكتب التفتيش الثانى بمحطة التفتيش عن الكيميائيات الزراعية الصادرة عام ٢٠٠٠ فى مجلة اجروكيميكال اليابان ذكر سيادتة ان الترايكودرما كانت اول منتج ميكروبى لمكافحة الافات تم تسجيله فى اليابان عام ١٩٥٤ وبعده تم تسجيل عشرة منتجات اضافية فى الاربعين سنة التالية حتى ١٩٩٣. نظام تسجيل المبيدات التقليدية تم تحديده بما يتلائم مع الكشف والتسجيل لمنتجات مكافحة الافات الميكروبية اخذين فى الاعتبار الخصائص البيولوجية لهذه المنتجات. بعد عام ١٩٩٣ زاد معدل تسجيل المبيدات الميكروبية من جراء الاسراع فى تجهيز دلائل خاصة عن الوسائل الميكروبية لمكافحة الافات. الدلائل الجديدة معمول بها بتعضيد قوى منذ ١٩٩٨ وحتى الان تم تسجيل ٣٢ منتج. فى هذا المقام سوف نلخص ما فى هذه الدلائل.

١- **المركبات التى تتعرض لمتطلبات الدلائل:** الدلائل قابلة للتطبيق على مدى محدود من الوسائل الميكروبية لمكافحة الافات مثل الفيروسات الحية والبكتريا والفطريات والبروتوزا والديدان الخيطية (فقط المنتجات التى تحتوى على بكتيريا تكافلية Symbiotic bacteria كمكون فعال) التى تصنع او تستورد وتسوق كمبيدات افات. هذا ولو ان الاعداء الطبيعية من اشباه الطفيليات parasitoides والمفترسات والمبيدات ذات الاصل الميكروبى مثل المضادات الحيوية antibiotics قد لا تقع فى هذا المدى. الميكروبات المحورة وراثيا لا تخضع لهذه الدلائل.

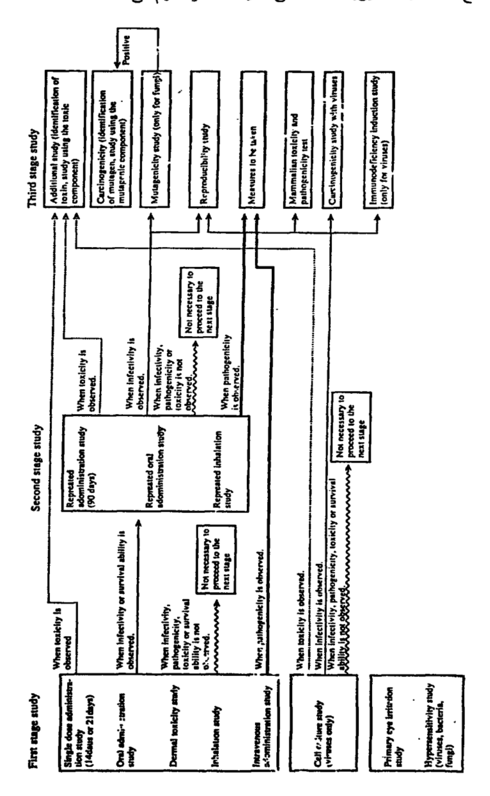
٢- **المفهوم الاساسى لتقييم امان المنتجات الميكروبية لمكافحة الافات:** الميكروبات المستخدمة تشمل فى الاساس تلك التى تنتشر نسبيا فى العالم الطبيعى والمعروف عنها عدم احداثها لاية تأثيرات معاكسة على نكائنات الحية المفيدة. لذلك يجب اجراء اختبارات متعلقة بالامان فى بطاريات التجريب كما فى الشكل (١- ١، ١- ٢). اذا تم تقييم البيانات المقدمة من طالب التسجيل على انها غير كافية لتغطية التأثيرات على الانسان والحيوان والبيئة تطلب بيانات اضافية اخرى. فى هذا الاقتراب فان الجرعة الكافية التى تزيد عن اعلى تعرض ممكن.

دراسة المرحلة الاولى دراسات المرحلة الثانية دراسات المرحلة الثالثة



شكل (١- ١) نتائج دراسة الامان فى الانسان

بسبب تعقيد الشكل وكثرة وتعدد التداخلات بين الاختبارات المدروسة فضلت ان اضع الشكل بالانجليزية كذلك حتى لا يحدث سوء فهم فى هذه العلاقات.

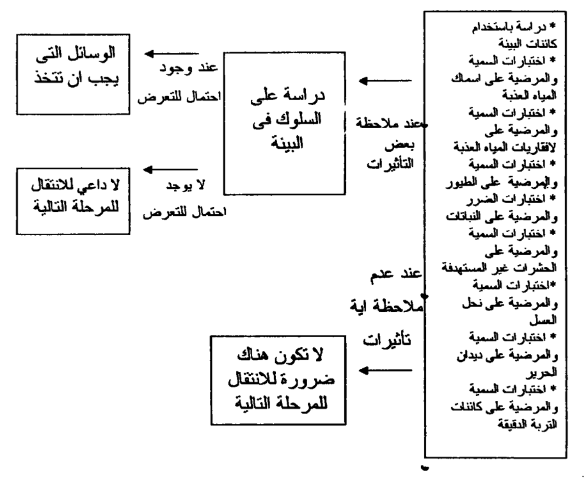


Results of safety study in man

فى البيئة الطبيعية يجب ان تؤخذ فى بروتوكول الاختبار(اختبار اقصى ضرر Maximum hazard test) باستخدام طريق المعاملة الذى يعتقد انه سيحدث اقصى تأثير معاكس على الحيوانات او النباتات المختبرة. اذا اظهرت نتائج الاختبار عدم حدوث تأثيرات معاكسة لا تكون هناك ضرورة لاختبارات المرحلة التالية.

٣- **الوثائق المطلوبة فى طلبات التقدم للتسجيل:** الوثائق المتعلقة بالمواصفات القياسية للمنتج والخصائص البيولوجية لوسائل المكافحة الميكروبية. يجب تقديم التعريف التقسيمى والصفات البيولوجية والمواصفات القياسية مثل التشابه وطريقة التصنيع والنواحى المتعلقة بالجودة.

دراسة المرحلة الاولى دراسة المرحلة الثانية دراسة المرحلة الثالثة



* **ملاحظة:** قد لا يطلب اجراء هذه الاختبارات علي اساس الصفات البيولوجية للكائن او في حالة عدم وجود احتمالات للتعرض

شكل (١- ٢) نتائج دراسات السمية والمرضية فى كائنات البيئة والسلوك فى البيئة

دراسات الامان المرتبطة بالتأثير على صحة الانسان (الشكل ١- ١).

المرحلة الاولى First phase: لتقييم تأثير الميكروبات على صحة الانسان فان الميكروب الذى يستخدم كمكون لمنتج مكافحة الافات الميكروبى يعطى لحيوانات التجارب لتقييم كفاءته فى احداث العدوى والمرضية والسمية والقدرة البقائية. لذلك تجرى دراسات على جرعة واحدة فردية تعطى للحيوان وكذلك دراسة عن الالتهابات والحساسية لتأكيد قدرة المركب فى احداث الالتهابات وفرط الحساسية. فى حالة الفيروسات تجرى دراسة اضافية للكشف عن وجود او غياب تأثيرات على وظائف المناعة او السرطانية وكذلك دراسة لتقدير وجود او غياب العدوى او تحول الفيروس باستخدام المزارع الخلوية الثديية. هذه الدراسات قد تجرى تحت بروتوكول اختبارات اقصى ضرر واذا لم تظهر نتائج هذه الاختبارات اية تأثيرات معاكسة لا تكون هناك ضرورة لاجراء اختبارات المرحلة التالية.

المراحل الثانية والثالثة: عند ملاحظة العدوى والمقدرة على البقاء فى اختبارات المرحلة الاولى تجرى دراسة تكرار اجراء او اعطاء الجرعة فى المرحلة الثانية للكشف عن تفاصيل هذه التأثيرات. عند ملاحظة حدوث العدوى فى الدراسة على المدى الطويل او فى دراسة المزارع الخلوية يجب اجراء دراسة التكرارية reproducibility كما يجب ان تجرى دراسات السرطانية فى المرحلة الثالثة لتقدير هذه التأثيرات.

اذا لوحظت تأثيرات توكسيكولوجية فى المرحلة الاولى او الثانية يجب تعريف التوكسين المسئول وتعريضه للاختبارات التى تجرى على مبيدات الافات الكيميائية. دراسة المقدرة على البقاء (الثبات) **survival ability study**. اذا كان المركب تحت الاختبار يستخدم على المحاصيل التى تؤكل طازجة واذا لوحظت اية تأثيرات معاكسة على صحة الانسان فى المرحلة الاولى فان دراسة القدرة على البقاء على هذه المحاصيل الطازجة يجب ان تقيم لتحديد مدى تأثيرها على صحة الانسان.

دراسة السمية والمرضية فى الكائنات البيئية (شكل١- ٢).

يجب ان يختار النوع او الانواع المختبرة من بين الكائنات الارضية وفى التربة وفى الاوساط المائية مع اعطاء كل الاعتبارات عن نوع المبيد الميكروبى وطريقة الاستخدام وامكانيات التعرض اعتمادا على مكان المعاملة وتشابه الانواع مع الكائن المستهدف. هذه الدراسة ليست مطلوبة اذا كانت الخصائص البيولوجية تشير الى

عدم توقع اية اضرار من الميكروب او اذا لم يكن هناك امكانيات لتعرض الاحياء والكائنات البيئية للمبيد.

اذا اظهرت الدراسة فى المرحلة الاولى عدم وجود اية تأثيرات معاكسة على الكائنات الحية فى البيئة لا تكون هناك ضرورة لاية دراسات لاحقة عن السلوك فى البيئة للمركب الحيوى تحت الدراسة.

دراسة السلوك فى البيئة: اذا اظهرت نتائج الدراسة على الكائنات فى البيئة اية تأثيرات عكسية على اى كائن يجب ان تجرى دراسات لاحقة لتحديد القدرة على البقاء والتضاعف للمبيد الميكروبى فى البيئة عن طريق طريقة الاختبار التى تحقق تعريض مؤثر للكائن او الكائنات المدروسة مع اعطاء كل الاعتبارات عن الخصائص البيولوجية وطرق تطبيق المبيد الميكروبى وانواع والصفات البيولوجية للكائنات التى تأثرت عكسيا.

تقارير حالات تفاعلات الحساسية الفائقة التى تحدث خلال التصنيع او الاستخدام:

لتحديد ما اذا كانت المنتجات الميكروبية لمكافحة الافات تسبب تفاعلات فرط الحساسية فى الانسان فان حدوث هذا التأثير فى الناس المشتركون فى تطوير وانتاج المركبات الميكروبية يجب ان تذكر فى التقدير.

٤- **الاساسيات المتعلقة بوثائق تقييم الامان:** تشرح تفاصيل الاستمارات و محتوى الوثائق التى يجب تقديمها بغرض التسجيل مثل البيانات التى نوضحها فيما يلى مع اختيار طرق الاختبارات والطريقة المستخدمة فى حصر تفاعلات فرط الحساسية وهذا هو ملخص هذه الطلبات الاساسية:

١- الدلائل تشرح متطلبات الوثائق عن البيانات الخاصة بتقييم الامان التى يجب تقديمها مع طلب تسجيل المنتجات الميكروبية وهى لا تطلب من طالب التسجيل الالتزام الدقيق بالدلائل فى تجهيز البيانات المطلوبة ولكنها تسمح بعمل بعض التحديدات والمراجعات على بروتوكول الدراسة طالما كان ذلك لن يخل بتحقيق اهداف الدراسة.

٢- عينات الاختبار Test sample.

I. المنتج التجارى الذى يستخدم كعينة اختبار يجب ان يكون مكون المنتج نفسه. اذا لم يتطابق المنتج التجارى من الناحية الفنية مع عينة الاختبار فان الميكروب فى نفس الصورة كما فى المنتج النهائى(خلايا خضرية، جراثيم، بلورات...او غيرها) تستخدم بدلا من المركب التجارى.

II المستحضر تحت الاختبار يجب ان يستخدم مع اعلى تركيز يستخدم مع المبيد ضمانا لتحقيق الامان- اذا لم يتوافق المستحضر من الناحية الفنية كعينة التجريب قد يستخدم المركب التجارى Technical product بدلا من المستحضر.

III- فى كل الاختبارات يجب ان تؤخذ عينات الاختبار من نفس القطفة ولو انه فى الاساس قد تؤخذ عينة الاختبار من لوتات مختلفة ولكن تركيبها يجب ان يكون مشابه للقطفة السابقة. اللوتات المستخدمة يجب ان توصف فى تقرير العينات.

IV- فى كل الاختبارات يجب ان تعرف المواد المختبرة بدقة كبيرة.

٣- **حيوان او نبات الاختبار:** حيوانات ونباتات التجارب يفضل ان تختار من نفس النوع او السلالة مع جميع الاختبارات بحيث تكون قريبة جدا من الانواع الموجودة فى النواحى العملية فيما يتعلق بضرورة تقييم الامان للمبيدات الميكروبية. يجب اختيار حيوانات او نباتات الاختبار فى دراسات السمية والمرضية فى الكائنات البيئية مع الاخذ فى الاعتبار نوع الوسيلة الميكروبية المستخدمة فى مكافحة الافات وامكانية التعرض اعتمادا على طريقة ومكان استخدام المبيد الميكروبى مع علاقة المبيد مع الكائن المستهدف. اسباب اختيار كائنات الاختبارات يجب ان تذكر فى التقرير.

٤- **تعريف / الكشف عن وسيلة المكافحة الميكروبية:** يجب ان تستخدم طريقة خاصة ذات اختيارية عالية وحساسة وعقلانية عالية اعتمادا على نوع الميكروب لتعريف والكشف عن وسيلة المكافحة الميكروبية محل الدراسات.

← وضع المبيدات الميكروبية فى التشريعات والقوانين اليابانية:

فى مقالة للباحث اليابانى K.Aizawa المنشوره فى كتاب"امان المبيدات الحشرية الميكروبية" الصادر عن دار النشرCRC فى فلوريدا ذكر الباحث فى مقدمة المقال المرجعى القديم انه تم تسجيل ثلاثة مبيدات حشرية ميكروبية فى اليابان: الاول هو باسيلليس موريتاى لمكافحة الذباب المنزلى (كمضاف للغذاء بواسطة وزارة الزراعة والغابات والتى اصبحت وزارة الزراعة والغابات والثروة السمكية عام١٩٦٩) وبعد ذلك كمبيد حشرى لمكافحة الافات الطبية (بواسطة وزارة الصحة والرفاهية عام ١٩٧٣)، الثانى هو تحضير فيروس البولى هيدروسيز السيتوبلازمية لمكافحة دودة الصنوبر والتى سجلت بواسطة وزارة الزراعة والغابات عام ١٩٧٤، الثالث هو تجهيز الباسيلليس ثورنجينسيز المتجرثمة المحلية المقتولة والتى سجلت بواسطة وزارة الزراعة والغابات والاسماك عام ١٩٨٨ كما تم تسجيل مخلوط من الجراثيم البللورية المحلية والاجنبية بواسطة وزارة الزراعة عام ١٩٨٢. فى هذا المقام سوف نلقى الضوء مرة اخرى عن تسجيل المبيدات الميكروبية فى القانون اليابانى.

(١) الكيميائيات الزراعية فى التشريع القانونى فى اليابان:

الغرض من القانون اليابانى تعريف الكيميائيات الزراعية والاعداء الطبيعية (بما فيها المتطفلات والمفترسات والكائنات الدقيقة الممرضة للحشرات) وتسجيل الكيميائيات الزراعية بواسطة الصناع والمصدرين.

أ- **الغرض من القانون:** ذكر فى المادة(١) من القانون ان الغرض منه هو المساعدة فى استقرار الانتاج الزراعى وحماية صحة الانسان من خلال التأثير على جودة الكيميائيات الزراعية والامان والاستخدامات الامنة عن طريق وضع نظام للتسجيل والسيطرة والاشراف على البيع والتطبيق لهذه الكيميائيات.

ب- **التعريف:** (ذكر فى المواد ١-٢). ذكرت المادة(١) ان الكيميائيات الزراعية فى هذا القانون تعنى المبيدات الفطرية والحشرية والكيميائيات الاخرى(بما فيها تلك المركبات التى تطلب من قبل الحكومة من بين الكيميائيات الزراعية التى تستخدم كمواد خام او مستحضرات نهائية للمكافحة) التى تستخدم لمكافحة الفطريات والنيماتودا والاكاروسات والحشرات والقوارض وغيرها من الحيوانات والنباتات او الفيروسات التى تضر بالمحاصيل(يطلق عليها الامراض والافات الحشرية) وكذلك مسرعات

النمو ومخفضات الانبات وغيرها من الكيميائيات المستخدمة لتحفيز او ابطاء الوظائف الفسيولوجية للمحاصيل المعاملة (بما فيها الاشجار والمنتجات الزراعية والغابات والتى يشار اليها فى القانون بالمحاصيل).

(٢)- فى هذا القانون تعتبر الاعداء الطبيعية التى تستخدم فى مكافحة الافات كما وصفت قبلا تدخل فى نطاق الكيميائيات الزراعية.

ج- التسجيل بواسطة صانعى ومستوردى الكيميائيات الزراعية:

المادة (٢): طلب التقدم للتسجيل كما عرف أعلاه يتم تقديم طلب يحتوى على النواحى التالية: وثيقة تشير الى نتائج الاختبارات الخاصة بالفاعلية والسمية وثبات المركب الكيميائى مصحوبا بعينة من المركب.

قام قسم وقاية المزروعات- وزارة الزراعة والغابات والاسماك باصدار الدلائل عن بيانات دراسات السمية للتقدم بتسجيل الكيميائيات الزراعية فى ٢٨ يناير ١٩٨٥. منذ اول ابريل عام ١٩٨٥ أصبح الزاميا او اجباريا تقديم البيانات التوكسيكولوجية عن الكيميائيات الزراعية فى توافق مع متطلبات تقييم امان الكيميائيات الزراعية. **هذه البيانات الاساسية عن تقييم الامان تشمل الاتى:**

١- السمية الحادة عن طريق الفم
٢- الجلد
٣- الاستنشاق
٤- الالتهابات الاولية على الاعين
٥- الجلد
٦- حساسية الجلد
٧- السمية الحادة العصبية المتأخرة
٨- السمية تحت المزمنة عن طريق الفم
٩- الاستنشاق
١٠- السمية العصبية تحت المزمنة
١١- التشوهات الخلقية
١٢- احداث الطفرات
١٣- بيانات الدراسات الصيدلانية

بيانات الدراسات التوكسيكولوجية المطلوبة لتقييم امان المخلفات الثابتة تتضمن:

١- السمية الحادة عن طريق الفم
٢- الجلد
٣- السمية تحت المزمنة
٤- السمية المزمنة
٥- احداث الاورام
٦- التناسل
٧- التشوهات الخلقية
٨- الطفرية
٩- التمثيل
١٠- بيانات الدراسات الصيدلانية

تسجيل المبيدات الحشرية الثلاثة الميكروبية التى ذكرت فى المقدمة تمت قبل عام ١٩٧٣. فى ذلك الوقت كانت متطلبات الامان اقل حدة عما هى الان وكانت اعتبارات التقدم بطلب التسجيل (من منطلق ان وسائل المكافحة الميكروبية تحدث طبيعيا) تعتبر على اساس حالة حالة.

(٢) مستحضر باسيلليس موريتاى لمكافحة الذباب المنزلى:

لقد تم عزل سلالات باسيلليس موريتاى ايزاوا وفوجيوشى الفعالة فى مكافحة الذباب المنزلى عام١٩٦٢ من التربة. اظهرت باسيلليس موريتاى مقدرة على احداث المرضية ضد الذبابة السوداء اوفيرا لوكوستوما والذبابة الخضراء من النوع لوسيليا كذلك. هذا بينما لم تظهر مقدرة فى احداث المرضية على دودة الحرير ولا نحل العسل.

لتسجيل مستحضر باسيلليس موريتاى لمكافحة الذباب المنزلى كمبيد حشرى ضد الحشرات ذات الاهمية على الصحة العامة فان بيانات الامان (خاصة السمية تحت المزمنة وانتشار خلايا البكتريا فى الاعضاء) تطلب بواسطة وزارة الصحة والرفاهية.

الاختبارات الخاصة بالامان الاتية مطلوبة:-

أ- الاختبارات على الفئران Mice:

السمية الحادة عن طريق الفم: يتم اعطاء الحيوانات معلق جراثيم باسيلليس موريتاى ($١,٧x١٠^{٥}$ ، $١,٧x١٠^{٦}$ ، $١,٧x١٠^{٧}$ جراثيم لكل فأر، تعامل خمسة فئران لكل تركيز) عن طريق الانبوب المعدى. لم تلاحظ اية وفيات او تأثيرات معاكسة ولم تحدث زيادة شاذة فى الوزن. توضع جراثيم باسيلليس موريتاى مع الغذاء ومعلق الجراثيم لمدة ٧ ايام وتربى الفئران مع الطعام العادى لمدة شهر بعد ذلك تعطى ثلاثة مستويات من الجراثيم الكلية لكل حيوان لمدة ٧ ايام على النحو التالى $١,٨x١٠^{٦}$ جرثومة مع الغذاء + $٣,٥x١٠^{٧}$ جرثومة مع الماء، $١,٣x١٠^{٧}$ جرثومة مع الغذاء + $٢x١٠^{٨}$ جرثومة مع الماء $١,٥x١٠^{٨}$ جرثومة مع الغذاء + $٢,٦x١٠^{٩}$ جراثيم بواسطة الماء (خمسة حيوانات لكل مستوى). لم تحدث اية وفيات ولا زيادة شاذة فى وزن الحيوانات.

استخدام الجراثيم على الجلد المجروح: تم استخدام ٣٠٠ ملليجرام من عجينة تحتوى على $١x١٠^{٨}$ جراثيم على الجلد المجروح لفئران التجارب. الضرر يشفى تماما.

الحقن تحت الجلد Intracutaneous injection: تم حقن معلق الجراثيم ($١,١x١٠^{٧}$ جراثيم لكل فأر) تحت الجلد فى خمسة حيوانات. لم تلاحظ اية تأثيرات معاكسة.

الحقن فى الغشاء البريالبريتونى Intrapriotioneal (ip) injection: تم حقن معلق جراثيم ($١,٩x١٠^{٦}$ ، $٢x١٠^{٧}$ ، $٢,٤x١٠^{٧}$ ، $٦x١٠^{٧}$ ، $١,٨x١٠^{٨}$ لكل فار) فى

الغشاء البريتونى. لقد وصلت الوفيات بعد ٧ ايام الى صفر/ ٨ ، ٨/٢ ، ٥/٤، ٥/٥، ١١/١١ على التوالى. فى تجربة اخرى عن السمية الحادة مع اعطاء الجراثيم عن طريق الفم كانت الجرعة المصفية القاتلة LD_5 أكبرمن ٤,٣x١٠^١٠ جراثيم لكل كيلو جرام من وزن الجسم بينما كانت LD_{50} عن طريق الحقن البريتونى ١,٢x١٠^٩ جراثيم لكل كيلو جرام من وزن الجسم وهذه مقارنة مع الباسيلليس ثورينجينسيز.

الاستنشاق Inhalation: تم تعريض الفئران لمسحوق الجراثيم (١,٨x١٠^١٠ جراثيم لكل جرام ، ٢٤٢-٢٦٣ جرام / م٣) لمدة ساعتان او ساعة / يوم لمدة ٧ ايام(استخدمت عشرة فئران لكل اختبار). لم تحدث اية وفيات او تلاحظ تأثيرات معاكسة. لقد اختفت خلايا باسيلليس موريتاى من الكبد والكلى والطحال والقلب بعد اسبوع من انتهاء الاستنشاق ولكن خلايا البكتريا فى الرئتان تناقصت تدريجيا.

اختبارات السمية تحت المزمنة Subchronic toxicity test:-

احداث المرضية Pathogenicity: تم اعطاء الجراثيم بتركيزات ٥x١٠^٨ ، ١x١٠^٩ ، ٥x١٠^٩ لكل جرام غذاء لمدة ٧ شهور. استخدمت عشرين فأر مع كل تركيز جراثيم وتم تسجيل البيانات عن وزن الجسم وحرارة الجسم والغذاء المستهلك كل اسبوع. تم تشريح خمسة فئران بعد ثلاثة اشهر من التغذية وعشرة فئران بعد ٧ شهور من التغذية لتقدير وزن الاعضاء الداخلية (الكبد والطحال والكلى والقلب والرئتان) وكذلك حصر اعداد الخلايا البكتيرية وكذلك الفحص النسيجى المرضى. الفئران المتبقية تم تشريحها لاجراء نفس الاختبارات التى ذكرت اعلاه مع التغذية لمدة ٧ شهور على الجراثيم مع اسبوعان اضافيان من التربية على غذاء عادى لم تسجل اية اختلافات بين المقارنة والمعاملات. هذا بينما كانت اعداد الوفيات فى الفئران بعد ٣-٧ شهور حيوان واحد فى تركيز ٥x١٠^٩ جراثيم لكل جرام غذاء، حيوانان فى المقارنة (١) (بدون معاملة) وحيوان فى المقارنة (٢) (غذاء فى المزرعة) على التوالى. لم يقدر ان موت الفئران تسبب بواسطة التغذية على جراثيم باسيلليس موريتاى. لقد تحصل على نتائج متشابهه فى تجارب اخرى.

اختفاء خلايا البكتيريا من اعضاء ودم الفئران: فى التقييم الحيوى لجراثيم باسيلليس موريتاى بتركيزات ٥x١٠^٨، ١x١٠^٩، ٥x١٠^٩جرثومة لكل جرام غذاء فان عدد خلايا البكتيريا لكل عضو فى الكبد والطحال والكلى والقلب والرئتان بعد سبعة اشهر

من التغذية كانت منخفضة(صفر- ٢٥٠) عما هو الحال مع تغذية ٣ شهور(صفر- ٣٤٠٠). هذا ولو ان خلايا البكتريا فى الاعضاء اختفت بعد اسبوعان من ايقاف التغذية بعد ٧ شهور ما عدا حالة واحدة(١٩ خلية بكتيرية فى الكبد عند تركيزات ٥x١٠^٩ جراثيم لكل جرام غذاء).

لقد وصلت اعداد المستعمرات لكل ملليلتر فى دم الفئران بعد ٣ ،٧ اشهر و٢ اسبوع من التغذية على غذاء عادى بعد ٧ شهور من التجريب الى صفر وحتى ١,٥. لقد تحصل على نتائج مشابهه فى تجربة اخرى. لقد اشار الباحث ميباشى الى اختفاء خلايا باسيلليس موريتاى من الدم بعد الحقن فى الوريد وفى الغشاء البريتونى للجراثيم وبعد ثلاثة سلاسل من الحقن الوريدى.لقد درس اختفاء باسيلليس موريتاى فى الاعضاء والدم كل شهر خلال ١٢ شهر تغذية الفئران على الجراثيم(٥x١٠^٩ جرثومة لكل جرام غذاء).

فى الشهر الاول لوحظ انتشار خلايا البكتريا فى الاعضاء ولكن اعداد الخلايا فى الاعضاء بدأت فى النقصان بالتدريج بعد ٢- ٣ شهور وكان الخفض واضحا بعد ٧- ٨ شهور فيما عدا الرئتان. لوحظ اختفاء خلايا البكتريا بعد ١٢ شهر.

ب- الاختبارات على الارانب:

السمية الحادة عن طريق الفم: تعطى الفئران ٢x١٠^٨ او ١,٥x١٠^٩ جرثومة لكل جرام غذاء لمدة ١٠ أيام. لقد استخدمت خمسة فئران مع كل مستوى تغذية ومع المقارنة لم تلاحظ تأثيرات معاكسة فى حرارة الجسم او فى معايير الدم وزيادة وزن الجسم. لم توجد بكتريا فى الدم.

اختبار السمية تحت المزمنة: أعطيت الارانب جراثيم باسيلليس موريتاى لمدة ١٠٠ يوم تحت نفس الظروف التجريبية فى اختبار السمية عن طريق الفم.

خلال الاختبار تم تغذية فأر واحد ١,٥x١٠^٩جراثيم لكل جرام غذاء وأحدثت نقص فى الوزن وارتفاع كبير فى درجة الحرارة hyperthermia .وقيم منخفضة فى معايير الدم وحدوث حواجز سميكة فى الرئتان فى نهاية الاختبار. لقد تم استبعاد هذا الفأر من بيانات بعض النتائج النهائية لان السمك لم يعتبر نتيجة للتغذية على الجراثيم. لم تلاحظ اختلافات معنوية فى استهلاك الطعام او زيادة وزن الجسم فى اى مجموعة حيوانات مختبرة بما فيها المقارنة. لقد كانت درجة حراراة المستقيم كما سجلت اسبوعيا

عادية. فى المرحلة المبكرة من الاختبار كانت درجة قيم معايير الدم عند مستوى $٢x١٠^{٨}$جرثومة لكل جرام غذاء وفى المقارنة فى المدى المنخفض. فى النهاية ولو انه تحصل على قيم عادية فى جاذبية الدم والكلى وتركيز الهيموجلوبين والصفائح الدموية وعدد كرات الدم الحمراء والبيضاء. لم تلاحظ اختلافات كبيرة مؤثرة فى نسبة العضو – الجسم فى الكبد والكلى والطحال والقلب والخصيات بين المعاملات والمقارنة. لقد تم الكشف عن البكتريا فى الدم قبل شهر من نهاية الاختبار ولو انه لم يتم تعريف القليل من المستعمرات التى تكونت على انها باسيلليس موريتاى.

ج- **اختبارات الحساسية والاعوار فى خنازير غينيا:** لقد تم احداث الحساسية بواسطة عشرة حقنات تحت الجلد بمعلق الجراثيم ولكن تحفيز الحساسية allergy لم يكن ملحوظا بشكل واضح ولكن حدثت نفس درجة الاستجابة بواسطة باسيليس سبتيلس (باسيلليس ناتو) التى استخدمت التخمر"natto" (تخمير فول الصويا مع باسيلليس سبتيلس). لم تحفز الحساسية فى خنازير غينيا التى تغذت على طعام يحتوى على $١x١٠^{٩}$ جرثومة لكل جرام لمدة اسبوع وتلك التى تعرضت لمسحوق الجراثيم بواسطة الاستنشاق ($٢,٣x١٠^{١١}$جرثومة لكل جرام، ١٥ جم/٨١، ١٥ دقيقة لكل يوم لمدة ٧ أيام). الاعوار Anaphylaxis لم يحفز فى اى من الاختبارات التى استخدمت جراثيم باسيلليس موريتاى او المقارنة مع استخدام جراثيم باسيلليس ستبيلس.

د- **اختبار الامان على الدواجن التى تضع البيض:** لقد تم اعطاء الداوجن معلق الجراثيم($١x١٠^{٩}$ جرثومة لكل ملليلتر) (٤ ملليلتر/ يوم) لمدة شهر. لم تلاحظ تأثيرات معاكسة وكانت الاعضاء طبيعية. لم تلاحظ اى عدوى بالبكتريا فى البيض. الدواجن البياضة(١١ شهر) غذيت على الجراثيم ($١,١x١٠^{٧}$، $٢,٢x١٠^{٧}$جرثومة لكل جرام غذاء، مع معاملة ٤٠ دجاجة مع كل تركيز جراثيم) لمدة ٤ شهور. لم تلاحظ اية اختلافات فى الغذاء المستهلك وانتاج البيض ووزن البيض بين المعاملات والمقارنة. الدجاج(٤ أسابيع فى العمر) غذيت على الجراثيم($٥x١٠^{٧}$ و $٢,٥x١٠^{٨}$ جرثومة لكل جرام عليقة مع ٢٠ دجاجة لكل تركيز جراثيم) لمدة ٦ شهور. لم تلاحظ اية اختلافات فى النمو والغذاء المستهلك وانتاج البيض بين المعاملات والمقارنة.

هـ- اختبارات الامان على البقر: لقد تم تغذية احد الابقار هولستين بالجراثيم ($2x10^{8}$ جرثومة لكل جرام غذاء) لمدة ٣ شهور. لقد تم فحص اخراج الخلايا البكتيرية فى البراز والبول وانتقال خلايا البكتريا فى الدم واختبار جودة اللبن. لقد وصلت اعداد الخلايا البكتيرية التى تم اخراجها فى البراز $1,7x10^{7}$جرثومة لكل جرام براز خلال التغذية على الجراثيم وتناقصت الى٠,٠١% بعد ثلاثة أيام من نهاية التجربة. لقد كانت اعداد خلايا البكتريا فى الدم تساوى ١,٥، ٨,٨، ١,٥ خلية لكل ملليلتر بعد ١، ٢، ٣ شهور على التوالى. لقد كانت صورة الدم طبيعية بعد ٣ شهور من التغذية.

و- اختبارات الامان مع السمك: تم تربية سمك الشبوط فى ماء محتوى على جراثيم ($5x10^{6}$ جرثومة لكل ملليلتر) لمدة ٤٨ ساعة ولم تلاحظ اية اعراض شاذة بعد ٧٢ ساعة.

س- اختبارات الامان على الطيور: لقد تم تغذية أربعة عصافير كنارى بالجراثيم ($4x10^{7}$ وحتى $2,5x10^{8}$جرثومة لكل طائر) اربعة تغذيات مع كل تركيز، كنارى واحد لكل تركيز) وتمت ملاحظة العصافير لمدة شهرين. لم تلاحظ اية تأثيرات معاكسة.

ص- اختبارات التغذية على الانسان: لقد اجرى هذا الاختبار على اربعة ذكور متطوعين بعمر من ٣١- ٤٨ سنة. لقد وضع ثلاثة رجال فى مجموعة التجريب وواحد للمقارنة. لقد تم اعطاء المتطوعين واحد جرام من جراثيم باسيلليس موريتاى ($1,7x10^{9}$جرثومة) فى كبسولة جيلاتين للثلاثة متطوعين قبل الفطور ولمدة ٥ أيام. لقد تم اعطاء نفس كمية الجراثيم المعقمة بالاوتوكلاف بواسطة رجل المقارنة.

الفحص البدنى الطبيعي: لم تظهر اية علامات على حدوث تأثيرات معاكسة من جراء تناول جراثيم باسيلليس موريتاى.

الفحص المعملى: اتضح ان جميع الاختبارات الاتية كانت نتائجها طبيعية مع عدم ظهور اية علامات عن العدوى بالبكتريا: تحليل الدم (كرات الدم، الهيموجلوبين، دليل اللون، كرات الدم البيضاء، الصفائح الدموية، بروتين البلازما)، تحليل البول (البروتين، الجلوكوز، يوروبيليتوجين، يوروبيلين)، وظيفة الكبد (دليل اليرقان icterus index، بيلورين، عكارة كبريتات الزنك، عكارة الثيمول، الكوليسترول الكلى، GOT،

ALP، LDH،GPT) ووظائف الكلى (BUN، صوديوم، كلورين، بوتاسيوم، حامض اليوريك،PSP).

اخراج الجراثيم فى البراز: يبدأ اخراج الجراثيم فى البراز بعد يوم من التناول للجراثيم. لقد وصلت اعداد الجراثيم فى الاربعة ايام التالية ١,٦ – ١,٧x١٠^٩ / يوم. بعد انتهاء التناول حدث خفض سريع فى اخراج الجراثيم ولم يتم الكشف عن جراثيم باسيلليس موريتاى فى اليوم السابع. الاسترجاع الكلى للجراثيم التى تم تناولها فى البراز بعد ٧ أيام من اخر تناول وصل الى ٩٦%مما ادى الى الاقتراح بحدوث اخراج كامل للجراثيم.

← **مستحضرات فيروس بولى هيدروسيز السيتوبلازمى لمكافحة يرقات الصنوبر:** لقد تأكد من فاعلية هذا الفيروس فى مكافحة يرقات الصنوبر اندروليمس سكبتابيلس فى الغابات. لقد تم تسجيل مستحضر تجارى فى اليابان عام١٩٧٤. لقد تم اجراء اختبارات الامان التالية:

(أ) **حقن جسيمات الفيروس او البولى هيدرا السيتوبلازمية فى الحيوانات:** تم الحقن فى الفئران والجرذان والهامستر والارانب عن طريق الحقن الوريدى وفى الغشاء البريتونى وفى المخ ولم تلاحظ اية اعراض مرضية, لقد خلص الباحث Katagiri عام١٩٨٨ الى عدم حدوث مرضية من جراء مرور الفيروس خلال لجنة الفئران والدواجن.

(ب) **السمية الحادة وتحت الحادة:** لقد تم تغذية الفئران والجرذان على اكثر من ٣,٣x١٠^١٠ بولى هيدرا لكل كيلو جرام من وزن الجسم لمدة ٧ أيام. لقد تم حقن الفئران والجرذان بالبولى هيدرا السيتوبلازمية عن طريق الانبوب المعدى لمدة ٩٠ يوم بتركيز ١,٨x١٠^١٠، ٩.-x١٠^٩، ٤,٥x١٠^٩، ٢,٣x١٠^٩ لكل كجم من وزن الجسم. لقد كان النو طبيعيا فيما عدا حدوث خفض طفيف مع تركيز يبدأ من ٤,٥x١٠^٩ بولى هيدرا لكل كيلو جرام. لم تحدث زيادة شاذة فى الوزن او اية تشوهات مرضية فى الاعضاء الداخلية فيما عدا الطحال والمبايض فى اناث الجرذان التى حدث فيها تضخم بسيط هذا مع حدوث بعض الاختناقات الدموية فى الامعاء والكلى فى الفئران المعاملة مع كمية صغيرة من ترشيح كرات الدم البيضاء فى معدة الجرذان المعاملة.

(ج) **السمية على الاسماك:** لم تموت اى من الاسماك التى حفظت فى الماء المضاف اليها البولى هيدرا (10^3، 10^4، 10^5، 10^6بولى هيدرا لكل ملليلتر لمدة ٧٢ ساعة).

مستحضرات الباسيلليس ثورينجينسيز: لقد تم عزل البكتريا بواسطة الباحث Berliner عام١٩١١ من اليرقات المريضة لفراشة دقيق البحر الابيض المتوسط ايفستيا كوهنيلا وسميت باسيلليس ثورينجينسيز فى عام ١٩١٥. مذا بينما تم الكشف الحقيقى عن هذه البكتريا بواسطة الباحث ايشوبوانتا عام ١٩٠١ فى اليرقات المريضة من دودة الحرير (مرض الفلاشيرى) فى اليابان. لقد اطلق الباحث ايشوانتا على هذه البكتريا المكونة للجراثيم سوتو Sotto ثورينجينسيز تحت النوع سوتو (الطرز السيرولوجى 4b ، 4a).

عندما تم التطوير الاول لمستحضرات باسيلليس ثورينجينسيز فى امريكا وفرنسا تم استيرادها فى اليابان. بسبب سميتها على دودة الحرير تم ايقاف استيراد اية سلالات من هذه البكتريا عزلت خارج اليابان وكذلك اية مستحضرات تعتمد عليها عن طريق الحجر الزراعي فيما عدا لاغراض البحث والتجريب شريطة موافقة وزارة الزراعة والغابات فى اليابان. بسبب المخاوف فى ذلك الوقت من ان تؤدى الباسيلليس ثورينجينسيز الى حدوث وباء مرضى فى مزارع دودة الحرير اصبح المطلب الاولى للسماح باية استخدامات عملية لهذه المبيدات الحشرية الميكروبية فى اليابان ضرورة اجراء بحوث مكثفة للوقوف على امكانية حدوث اية تأثيرات معاكسة على ديدان الحرير وعلى صناعة الحرير بشكل عام. فى هذا المقام تم بحث النواحى التالية:

١- حساسية سلالات دودة الحرير ضد سلالات باسيلليس ثورينجينسيز ومستحضراتها.
٢- تربية يرقات دودة الحرير على اوراق التوت المرشوشة بجرعات تحت مميتة من الباسيلليس ثورينجينسيز.
٣- عزل هذه الكائنات الدقيقة من مخلفات مزارع تربية ديدان الحرير.
٤- العلاقة بين حدوث امراض دودة الحرير ووجود جراثيم باسيلليس على مزارع تربية دودة الحرير.
٥- توزيع الطرز السيرولوجية لهذا الكائن الدقيق.
٦- تضاعف هذا الميكروب فى يرقات دودة الحرير الميتة.
٧- تضاعف الباسيلليس ثورينجينسيز فى التربة.

٨- معاملة وحدات التربية المستخدمة فى تربية ديدان الحرير بانفورمالين وغيره من المطهرات الاخرى.

٩- توضيح الاخطار وثيقة الصلة بانجراف الرش الى زراعات التوت.

١٠- اختيار سلالات باسيلليس ثورينجينسيز ذات السمية المنخفضة على دودة الحرير للاستخدام فى مكافحة الافات الحشرية فى اليابان.

لقد اجريت هذه الدراسات الموضحة اعلاه على امتداد عشر سنوات. لقد ادت نتائج هذه الدراسات الى اتخاذ قرار باعفاء سلالات الباسيلليس الاجنبية من اجراءات الحجر النباتى فى عام ١٩٧١ ونفس الشئ على مستحضراتها بالتبعية قامت رابطة حماية المزروعات اليابانية فى عام ١٩٧٢ بتشكيل لجنة دراسة مستحضرات باسيلليس ثورينجينسيز فى خمسة اقسام كل منها يتناول ناحية من النواحى التالية: بحوث اساسية وثيقة الصلة بهذا الميكروب، فاعلية وامان هذه المبيدات الحشرية الميكروبية، النواحى المتعلقة بصناعة الحرير ونحل العسل والتطبيقات العملية.

لقد قامت اللجنة بدراسة كفاءة وامان مستحضرات الباسيلليس ثورينجينسيز وتأثيراتها على البيئة خاصة ما يتعلق بمزارع دودة الحرير. اذا استخدمت هذه المستحضرات بعناية او حذر يمكن ادخالها فى بيئات تربية ديدان الحرير دون ان تحدث بها اية اضرار. حدوث امراض ديدان الحرير يمكن تحديد ما اذا كانت تحدث بسبب نشر واستخدام مستحضرات الباسيلليس ام لا. تقوم اللجنة كذلك بايضاح مغزى تقييم كفاءة مستحضرات باسيلليس ثورينجينسيز كما قامت بوضع وتطوير الخطوات التالية لتقنين وتشريع كفاءة هذا الميكروب.

لقد تم تربية يرقات دودة الحرير (بوميكس موراى- سلالة شوجتوبومبكس سلالة شونرى) على غذاء صناعى على درجة حرارة ٢٤- ٢٥ م. تخفيف مستحضرات الباسيلليس عادة يكون من ٣/٤ وحتى مرتان ، تم خلط نصف ملليلتر من العينة المخففة مع ١٠ جرام من الغذاء الصناعى فى طبق بترى. استخدمت ٣٠ يرقة (١٠ يرقات فى ٣ اطباق بترى) فى اليوم الثانى من العمر الثالث مع كل تخفيفة فى العينة. تم تربية اليرقات لمدة ٣ أيام على غذاء فى العينة ولمدة يومان اضافيان على غذاء طبيعى عادى. تم تسجيل الوفيات. اذا حدثت وفاة لاكثر من يرقتان من بين ٣٠ يرقة تستبعد النتائج.

تم تجهيز معيار قياسى ذاتى Self- Standard لكل قائم بتجهيز المستحضرات يوضع فى محطة التفتيش عن الكيميائيات الزراعية التابعة لوزارة الزراعة والغابات والمصائد السمكية. كفاءة كل مقياس ذاتى كانت 1000 Bm U/mg (وحدات دودة الحرير) بصرف النظر عن السمية على دودة الحرير. يتم حساب الكفاءة من المعادلة التالية:

كفاءة العينة = التركيز النصفى القاتل Lc50 (ميكروجرام/ ملليلتر) المقياس الخاص / التركيز النصفى القاتل Lc50 (ميكروجرام/ ملليلتر) عينة

كفاءة المستحضرات التجارية مطلوبة ان تقع بين ٨٥ وضعف القيمة المدونة ١٠٠% للعامل BmU عند التحليل الحيوى للعينات بواسطة محطة تفتيش الكيميائيات الزراعية. كل مقياس ذاتى قياسى يجب ان يعبر عنه كوحدة دولية IU او International Unit لكل ملليجرام واذا كان ضروريا يستخدم المعيار E-61 (المعيار القياسى الدولى International standard) او المعيار القياسي الامريكى (HD- 1- S- 1971).

هذه الطريقة والخطوات تستخدم فقط لتشريع وتنظيم كفاءة المستحضرات الموضحة. الكمية العملية للمستحضر التى تصلح لمكافحة الحشرات المستهدفة يجب ان تحدد من خلال اختبارات مستقلة. عند تقدم طلبات التسجيل لمستحضرات الباسيلليس ثورينجينسيز المتوطنة والاجنبية الى وزارة الزراعة والغابات قبل ١٩٧٣ ترفق بالبيانات المنشورة واية معلومات من خارج اليابان وتؤخذ فى الاعتبار. يتم استعراض كل البيانات عن السمية الحادة عن طريق الفم، السمية الحادة عن طريق الحقن البريتونى، السمية الحادة عن طريق الجلد، السمية الحادة عن طريق الاستنشاق والسمية الاولية على التهابات العين.

كل البيانات الواردة من الصناع اليابانيين تنشر. لا يمكن ان نقوم بتقدير متوسط اعداد خلايا الباسيلليس ثورينجينسيز فى اعضاء الفأر بعدم ٣- ٧ أيام من التغذية على جراثيم الكائن الدقيق بتركيز 1×10^{9}جرثومة لكل جرام غذاء وبعد اسبوعان نهاية التغذية لمدة ٧ شهور. هذه المعلومات تشير الى ان اعداد الخلايا وثيقة الصلة لكل عضو بعد ٣ شهور من برنامج التغذية كانت فى الكبد (٦٧٠) والطحال

(٣٦٠) والكلى (١١٠) والقلب (٧٥). برنامج السبعة شهور تغذية انتج قيما متتابعة ١٦، صفر، ١٧، صفر. بالاضافة الى ذلك فان اعداد باسيلليس ثورينجينسيز لكل ملليلتر دم كانت صفر بعد ثلاثة شهور تغذية، ١,١ بعد ٧ شهور تغذية، ١,٣ بعد اسبوعين من اكتمال الشهور السبعة تغذية. لقد تحصل على نفس النتائج من عدم المرضية على الفئران من جراء التغذية لمدة ٧ شهور من تجربة اخرى.

لقد تم استعراض التأثيرات البيئية للباسيلليس ثورينجينسيز فى النواحى الاتية:

١- التتابعات على النباتات والحيوانات غير المستهدفة

٢- الايكولوجيا الميكروبية للمركب فى الاراضى والمياه

٣- تجارب الانجراف الهوائى مع مستحضرات الباسيلليس

٤- استخدام التجارب الخاصة بالانجراف فى بيئات تربية دودة الحرير

حيث ان بعض سلالات باسيلليس ثورينجينسيز تسبب تراكم السائل فى فصوص لفائف الارانب، انتاج التوكسين المعدى فى هذه السلالات التى تستخدم فعلا فى تطوير المستحضرات التجارية فان هذا واجب الفحص. لذلك فانه قد استغرق السماح بتسجيل الباسيلليس ما يقارب من حقبة زمنية فى اليابان. لقد كانت هذه حالة خاصة تم وزنها بواسطة اهتمام الاقتصاد اليابانى بصناعة الحرير.

REFERENCES

Aizawa, K. and Fujiyoshi. N., Selection and breeding of bacteria for control of insect pests in the sericultural countries. In *proc.* Join' U. S.-japan Seminar on Microbial Contr. Insect pests. U.S.-japan Committee Scientific Cooperation. 79. 1968.

Aizawa, K., Recent development in the production and utilization of microbial insecticides in Japan, in proc. Ist Int. Colloq. Invertebr. Pathol.; 9th Annu. Meet. Soc. Invertebraie pathology. Queen's University, Kingston, 1976, 59.

Berliner, E., Uper die Schlaffsucht der Mehlmottenraupe, Z. Gesamte Getreidewes., 3, 63. 1911.

Fujiyoshi, N., Studies on the utilization of sporeforming bacteria for the control of houseflies and mosquitoes, Research Report Seibu Chemical Industry Co., Special Issue, 1, 1, 1973.

Ishiwata, S., On a kind of severe flacherie (sorro disease). I. *Dianihon* Sanshi kaiho. 114, 1, 1901.

Katagiri, K., pest control by cytoplasmic polyhedrosis viruses, in Microbial Control of pests and plant Diseases. Burges. H. D., Ed., Academic press, New York, 1981, 433.

Maebasni. H. On the pathogenicity to mammals of the rew bacterial insecucide- J. Hyg., 27, 267, 1972.

Spira, W. H. and Goepfert, J. M., Bacillus cereus- induced fluid accumulation in rabbit ileal joops. Apple. Microbial., 24, 341, 1972.

Tanka, N., Naiki, M., and Mitsui, T., Toxicity of a cytoplasmic polyhedrosis virus of the pioe caterpillar, Dendrolimus spectabilis against warm- blooded animals. I. pathogenicity of purified virus. Abstr. Annu Meet. Jpn. Soc. Appl. Entomal. Zool., 36, 1967.

خامسا: تسجيل المبيدات الكيميائية والحيوية الميكروبية (دون تفرقة) فى مصر

عندما حان وقت الكلام عن متطلبات وقواعد تسجيل وسبل تحقيق الامان مع المبيدات الحيوية الميكروبية فى مصر لم اجد سوى بروتوكولات التجريب والتقييم الحيوى على الافات الضارة المستهدفة والتأثيرات الجانبية على الكائنات النافعة غير المستهدفة خاصة نحل العسل. للاسف الشديد بحثت عن قواعد تسجيل المبيدات الحشرية الميكروبية فى مصر ولم اجد شيئا واردت التأكد فسألت الزميل المسئول الاول عن المكافحة فى مصر أنذاك أ. د. خليل المالكى الذى أكد لى بعدم وجود مثل هذه القواعد فى الوقت الحالى ولكن الوزارة بصدد استكمال هذا النقص بالرغم من ان تسجيل وسائل مكافحة الافات الكيميائية والحيوية كذلك تتمشى وتتوافق مع ما هو معمول به فى وكالة حماية البيئة الامريكية US- EPA. لذلك لم يكن امامى سوى الاشارة الى اخر القرارات الوزارية وهو القرار رقم ٣٠٥٩ الصادر عام ٢٠٠٤ فى شأن مبيدات الافات الزراعية وكذلك التوسع فى تغطية الموضوع من خلال تناول تسجيل وسبل تحقيق امان المبيدات الميكروبية فى كندا ومحاولة الاشارة الى اخر اصدارات وكالة EPA فى هذا الشأن. كذلك أشير الي القرار الوزاري رقم ٣٠٦٠ بشأن تولي اللجنة حصرّ جميع أنواع المبيدات التي تم تسجيلها في مصر منذ ١٩٩٩ (تاريخ ألغاء لجنة المبيدات) وحتي صدور هذا القرار.

بسم الله الرحمن الرحيم

جمهورية مصر العربية

وزارة الزراعة واستصلاح الأراضى

مكتب الوزير

قرار وزارى

رقم ٣٠٥٩ لسنة ٢٠٠٤

فى شأن مبيدات الافات الزراعية

****

وزير الزراعة واستصلاح الأراضى:-

- بعد الاطلاع على قانون الزراعة الصادر بالقانون رقم ٥٣ لسنة ١٩٦٦،
- وعلى قانون البيئة الصادر بالقانون رقم ٤ لسنة ١٩٩٤ ولائحته التنفيذية،
- وعلى القرار الوزارى رقم ٣٢٠٩ لسنة ٢٠٠٣،
- وعلى القرار الوزارى رقم ١٧٣ لسنة ٢٠٠٤،
- وبعد موافقة لجنة مبيدات الآفات الزراعية،
- وعلى عرض رئيس اللجنة.

قـــــــــرر

مادة (١) : يحظر انتاج أو تجهيز أو إعادة تعبئة او استيراد او تداول أو الاتجار فى مبيدات الآفات الزراعية أو الإفراج عنها من الجمارك إلا إذا كانت مسجلة بوزارة الزراعة طبقا للقواعد والاجراءات المنصوص عليها فى هذا القرار وتعد من المبيدات جميع المواد والمركبات التى تستخدم فى مكافحة الآفات الزراعية حتى ولو كان لها استعمال آخر.

مادة (٢) : يكون تسجيل المبيدات بمراعاة القواعد الصادرة عن منظمة الأغذية والزراعة (FAO) ومنظمة الصحة العالمية (WHO) التابعتين للأمم المتحدة.

مادة (٣) : يقدم طلب التسجيل على النموذج المبين بالملحق رقم (١) المرفق بهذا القرار إلى لجنة مبيدات الآفات الزراعية، ويرفق بالطلب ما يثبت أداء الطالب لرسم التسجيل بواقع عشرة جنيه لكل مادة أو مستحضر مطلوب تسجيله والملف الخاص بالمبيد والذى يشمل المستندات والبيانات الفنية الموثقة (ملحق رقم ٢) وعلى الأخص ما يأتى:

- شهادة تسجيله واستخدامه فى بلد المنشأ.
- شهادة ضمان جودة المستحضر من الشركة المصنعة.
- طرق تحليل المبيد والشوائب المصاحبة وطرق تحليل متبقياته على وفى المحصول الذى تتم معاملته به.
- دراسات تقييم المخاطر وخاصة ما يتعلق بالتأثيرات المسرطنة والتأثيرات الصحية السلبية الأخرى.
- عدد عشرون نسخة من النشرات الفنية الخاصة بالمبيد.
- طلب إجراء التجارب على المركب المطلوب تسجيله وإجراء التحاليل اللازمة لتسجيل المبيد على النموذجين المبينين بالملحقين رقمى (٣، ٤) المرفقين
- تعهد من الطالب بأداء المصروفات الفعلية لإجراء التحاليل والتجارب التى تحددها اللجنة ويخطر الطالب بأدائها فى موعد لا يجاوز خمسة عشر يوما من تاريخ تقديم الطلب.
- دراسات السمية البيئية – السمية على الثدييات – الخواص الطبيعية والكيميائية على المركب.

مادة (٤) : يلتزم طالب التسجيل بأن يقدم دون مقابل العينات اللازمة لإجراء التجارب والتحاليل على المبيد المطلوب تسجيله بصورته النقية Pure والخام Technical والمجهزة Formulated وذلك بالكميات التى تحددها لجنة مبيدات الآفات الزراعية.

مادة (٥) : لا يتم تسجيل المبيد إلا بعد التحقق من مطابقته لمواصفات الكيميائية والطبيعية وأخذ بصمته التى يتم تسجيله عليها بناء على نتائج التحاليل التى تجرى بقسم بحوث تحليل المبيدات بالمعمل المركزى للمبيدات، وبعد ثبوت كفاءة المبيد الحيوية بناء على التجارب التى تجرى بمعرفة محطات ومراكز البحوث التى تحددها اللجنة المختصة وذلك لمدة ثلاث مواسم زراعية متماثلة

ومتتالية ويستثنى من ذلك المبيدات الحيوية فيكون التجريب لمدة موسمين زراعيين متماثلين ومتتاليين، وكذلك مركبات النحاس والكبريت والزيوت لمدة موسم زراعى واحد، وفى جميع الأحوال يكون الموسم الأخير للتجريب على المستوى التوسعى وفى جميع الأحوال يصدر إخطار بالتوصية يعتمد من أمين لجنة مبيدات الآفات الزراعية.

مادة (٦) : تصدر لجنة مبيدات الآفات الزراعية قرارها بالموافقة على تسجيل المبيد بعد اعتماد محضرها من وزير الزراعة وتصدر شهادة التسجيل بتوقيع رئيس الإدارة المركزية لمكافحة الآفات على النموذج المبين بالملحق رقم (٥) من ثلاث نسخ تسلم الأولى لطالب التسجيل وتحفظ الثانية بأمانة اللجنة وترسل الثالثة الى المعمل المركزى للمبيدات.

ويراعى عدم تكرار الاسم التجارى للمبيد أو إعطاء إسم تجارى مشابه لإسم مبيد آخر مسجل أو تسمية المبيد بالاسم العام (المادة الفعالة) للمركب.

مادة (٧) : يتولى أمين اللجنة اعتماد البطاقة الاستدلالية الخاصة بالمبيد والتى تسرى لمدة عام ولا تجدد غلا بعد مراجعتها وتلصق على عبواته وتحدد نوعيته بما يتفق مع المواصفات الفنية الخاصة به ويجب أن تتضمن البطاقة البيانات التالية مكتوبة باللغة العربية بخط واضح لا يسهل محوه ويتناسب مع حجم العبوة: الإسم التجارى – الإسم العام – التركيب – المواد الفعالة ونسبتها – المواد ذات النشاط السطحى – المذيب أو المادة المالئة – الاستعمالات وطريقة الاستخدام – احتياطات الأمان – الاسعافات الأولية – العقار المضاد للتسمم – فترة ما قبل الحصاد طبقا لما يحدده قسم بحوث متبقيات المبيدات وتلوث البيئة بالمعمل المركزى للمبيدات – توصيف المركب تبعا للمخاطر وفقا لتقسيم منظمة الصحة العالمية – بيانات تحذيرية عن مخاطر المركب – طرق التخلص من العبوات الفارغة – الشركة المنتجة وعنوانها – الشركة المستوردة وعنوانها – تاريخ التصنيع – تاريخ إنتهاء الصلاحية – رقم التشغيله – رقم اللوط – رقم التسجيل المحلى – سعة العبوة – العلامات الخاصة بالاحتياطات الواجب اتخاذها عند تداول واستعمال المركب (البكتوجرام).

مادة (٨) : تسرى شهادة التسجيل **لمدة ثلاث سنوات** من تاريخ صدورها ويجوز تجديد التسجيل على أن يقدم صاحب الشأن طلبا لإعادة تقييم الكفاءة الحيوية فى

بداية السنة الثالثة لسريان الشهادة، ويتم النظر فى هذا الطلب بذات الاجراءات المقررة للتسجيل، ويجب مطابقة الخواص الطبيعية والكيميائية وبصمة المبيد التى تم تسجيله عليها ويقتصر إجراء تجارب على إعادة تقييم الكفاءة الحيوية **لموسم زراعى واحد.**

مادة (٩) : لا يجوز التنازل للغير عن شهادة التسجيل إلا فى حالة انتقال ملكية الجهة المسجل المبيد بإسمها إلى الغير وبعد موافقة لجنة مبيدات الأفات الزراعية.

مادة (١٠) : يعد سجل خاص بمعرفة لجنة مبيدات الأفات الزراعية تقيد فيه المبيدات التى تقرر تسجيلها طبقا لأحكام هذا القرار وذلك بأرقام مسلسلة بحسب تواريخ اعتماد التسجيل.

مادة (١١) : يلغى تسجيل المبيد او يقيد استخدامه بقرار يصدر من لجنة مبيدات الافات الزراعية فى أى من الحالات الآتية:-

أ- مخالفة شروط التسجيل.

ب-تدهور الفاعلية فى المجال المسجل عليه.

ج- حظر استخدامه بتوصيات صادرة من المنظمات الدولية ذات الصلة.

د- إلغاء تسجيل أو تقييد استخدامه فى بلد المنشأ.

هـ- حدوث أضرار متوقعة على الصحة العامة أو البيئة نتيجة استخدامه على الوجه المسجل به.

ويخطر صاحب الشأن بقرار اللجنة خلال ١٥ يوما من اعتماد القرار بموجب كتاب موصى عليه مصحوب بعلم الوصول على عنوانه الوارد بطلب التسجيل.

مادة (١٢) : لصاحب الشأن أن يتظلم من قرار الإلغاء أو تقييد الاستخدام خلال ٦٠ يوما من تاريخ استلامه للخطاب وللجنة أن تفصل فى التظلم بعد إعادة دراسته خلال ٦٠ يوما من تاريخ تقديم التظلم ويكون قرارها بالبت نهائيا بعد اعتماده من وزير الزراعة ويتم التأشير بالإلغاء أو تقيد الاستخدام فى السجل الخاص بالتسجيل بعد انقضاء ميعاد التظلم من قرار الإلغاء أو تقييد الاستخدام او بالبت فيه على الوجه المتقدم.

مادة (١٣) : لا يجوز الموافقة من الناحية الفنية على استيراد أى مبيد من مبيدات الآفات الزراعية إلا إذا كان مسجلا بوزارة الزراعة وفى حالة الاستيراد بغرض الاتجار فيجب أن يكون طالب الاستيراد او من يتم الاستيراد

لحسابه حاصلا على ترخيص بالاتجار فى المبيدات طبقا لأحكام هذا القرار وتصدر الموافقة الفنية عن قطاع الشئون المالية والادارية بالوزارة.
وتسرى الموافقة الفنية والافراج عن المبيدات لمدة ستة أشهر وتلغى تلقائيا بعد انتهائها ما لم يصدر قرار من اللجنة بمد سريانها لمدة أخرى لا تجاوز المدة المشار إليها على أن تصل الرسالة خلال فترة سريان الموافقة الفنية وتصدر الموافقة المشار اليها بعد موافقة لجنة مبيدات الافات الزراعيةز ويكون الإفراج النهائى عن الرسائل المستوردة بموافقة لجنة مبيدات الآفات الزراعية بناء على نتائج التحاليل التى ترد الى اللجنة من المعمل المركزى للمبيدات والتحقق من مطابقتها للمواصفات الفنية المسجل بها المبيد، ويصدر ترخيص الافراج النهائى بتوقيع أمين اللجنة.

مادة (١٤) : يجوز للجنة مبيدات الآفات الزراعية ان تصرح باستيراد كميات تحددها من مبيدات الآفات الزراعية غير المسجلة وذلك لأغراض التجارب والبحوث العلمية بناء على طلب إحدى الجامعات او مراكز البحث العلمى المتخصصة على أن تجرى التجارب والبحوث فى محطات التجارب الخاصة بها وتوتفى اللجنة بنتائج التجارب ولا تكون ملزمة للجنة ولا يعتد بها عند تقييم المبيد للتسجيل طبقا لأحكام هذا القرار.
ولا يجوز استيراد هذه المبيدات أو تصنيعها أو تجهيزها أو تداولها إلا بعد إتمام تسجيلها طبقا لأحكام هذا القرار.
ويجوز للجنة ان تصرح باستيراد بعذ أنواع المبيدات غير المسجلة للإستعمال الخاص فى المزارع المخصصة للتصدير بالكميات التى تحددها وتتناسب مع المساحة المطلوبة وذلك بالشروط الاتية.

أ- أن يكون المبيد المطلوب استيراده مسجلا فى بلد المنشأ ويستعمل فيها وفى البلد المطلوب التصدير إليه وأنه يلزم استعماله فى إنتاج المحصول التصديرى المطلوب.

ب-أن لا يدخل فى تركيب المبيد المطلوب أية مادة محظور استخدامها دوليا.

ج- تقديم شهادة معتمدة من مديرية الزراعة النختصة بالمساحة التى يحوزها الطالب والمحاصيل التى تزرع والمطلوب استخدام المبيد فيها.

د- أن يثبت على عبوات المبيد باللغة العربية بخط واضح ومميز ولا يسهل محوه ويتناسب مع حجم العبوة عبارة " **غير قابل للتداول مع بيات اسم الجهة المستورد لحسابها الخاص**" وذلك بالاضافة الى البيانات الأخرى الواجب اثباتها على البطاقة الاستدلالية للمبيدات طبقا لأحكام هذا القرار.ويكون التصريح باستيراد المبيد للاستعمال الخاص طبقا لحكم هذه الفقرة بمثابة تصريح مؤقت لمدة سنة ولا يسمح بتجديده إلا بعد تقديم ما يفيد تصدير المحصول المستعمل فيه المبيد بالكامل، ولا يجوز التصريح باستيراد هذا المبيد بعد مضى المدة المقررة للتسهيل طبقا لأحكام هذا القرار " **ثلاث سنوات**" الا إذا تم تسجيله.

ويكون الافراج الجمركى عن المبيدات المنصوص عليها فى هذه المادة بموافقة المعمل المركزى للمبيدات.

مادة (١٥) : لا يجوز استيراد المذيبات والمواد المساعدة اللازمة لتصنيع أو تجهيز المبيد إلا إذا كانت داخله فى مكوناته المسجل بها وتتضمنها المستندات المقدمة فى طلب التسجيل وبعد موافقة لجنة مبيدات الأفات الزراعية وبالكميات اللازمة التى تحددها اللجنة.

مادة (١٦): يحظر تصنيع أو تجهيز أو إعادة تعبئة مبيدات الأفات الزراعية المسجلة إلا فى مصنع مخصص لذلك ويقدم طلب الترخيص بالتصنيع او التجهيز أو إعادة التعبئة غلى المعمل المركزى للمبيدات على النموذج المبين بالملحق رقم (٦) مصحوبا بموافقة وزارة الصناعة وجهاز شئون البيئة والوحدة المحلية المختصة طبقا للقوانين المنظمة للصناعة والبيئة والمحال الصناعية والتجارية المقلقة للراحة والمضة بالصحة والخطرة وما يفيد القيد بالسجل التجارى والبطاقة الضريبية الخاصة بالطالب، وبيان المدير الفنى المسئول عن المصنع من بين المهندسين الزراعيين المقيدين بنقابة المهن الزراعية.

ويتم البت فى الطلب من قبل لجنة مبيدات الآفات الزراعية وتصدر الموافقة على النموذج المبيد بالملحق رقم (٧).

ويصدر الترخيص من المعمل المركزى للمبيدات ويسرى **لمدة ثلاث سنوات** من تاريخ صدوره ويجوز تجديده بذات الشروط والاجراءات على أن يقدم طلب التجديد قبل نهاية مدة الترخيص بثلاثة أشهر على الأقل،

ويلغى الترخيص بقرار من لجنة مبيدات الآفات الزراعية فى حالة مخالفة أى شرط من شروطه.

مادة (١٧) : لا يجوز تداول أية تشغيله مصنعة أو مجهزة أو معاد تعبئتها من أنواع المبيدات محليا إلا بعد تحليل عينات منها بمعرفة قسم بحوث تحليل المبيدات بالمعمل المركزى للمبيدات والتحقق من مطابقة التشغيلة المصنعة للمبيد التى تم على أساس تسجيله واصدار شهادة تحليل من المعمل المركزى للمبيد للمواصفات والسماح بتداوله.

مادة (١٨) : يجب أن يكون تداول مبيدات الآفات الزراعية فى عبوات معينة محكمة الغلق تتحمل ظروف النقل والتخزين ولا تسمح بالتسرب أو الرشح طبقا للمواصفات القياسية المصرية وتكون مصنوعة من مادة لا تتفاعل مع محتوياتها تفاعلا يغير من تركيبها أو خواصها ويتيعين اختبار هذه العبوات قبل استخدامها بقسم بحوث مستحضرات المبيدات بالمعمل المركزى للمبيد وفقا للملحق رقم (٨)، ويجب أن تلصق على العبوة البطاقة الاستدلالية المنصوص عليها فى المادة (٧) من هذا القرار.

مادة (١٩) : لا يجوز الاتجار فى مبيدات الآفات الزراعية إلا فى محل أو مخزن معد لهذا الغرض مستوف لإشتراطات الترخيص اللازم طبقا لأحكام القانون رقم ٤٥٣ لسنة ١٩٥٤ فى شأم المحال الصناعية والتجارية المشار اليها.

ويقدم طلب الترخيص بالاتجار عن كل محل او مخزن على النموذج المبين بالملحق رقم (٩) إلى مديرية الزراعة المختصة مرفقا بها الترخيص سابق من الوحدة المحلية المختصة طبقا لأحكام القانون رقم (٤٥٣) لسنة ١٩٥٤ المشار اليه وما يفيد القيد بالسجل التجارى والبطاقة الضريبية وبيان المدير الفنى المسئول عن كل محل أو مخزن من بين المهندسين الزراعيين المقيدين بنقابة المهن الزراعية.

ويشترط اجتياز المدير الفنى المسئول للبرنامج التدريبى المعتمد من لجنة مبيدات الآفات الزراعية، ويصدر الترخيص بالاتجار عن كل محل أو مخزن من مدير مديرية الزراعة المختصة بعدم أداء الرسم المقرر قانونا (ملحق رقم ١٠).

ويسرى الترخيص بالاتجار **لمدة ثلاث سنوات** من اريخ صدوره ويجوز تجديده بذات الشروط والاجراءات على أن يقدم طب التجديد قبل نهاية مدة الترخيص بثلاثة اشهر على الأقل.

ويتيعن على المرخص له غخطار مديرية الزراعة كتابة باى تعديل يرغب فى إجراءه فى المحل أو المخزن المرخص به وذلك خلال ثلاثين يوما قبل تاريخ إجراء التعديل وإلا إعتبر الترخيص ـــ وفى حالة الموافقة على العديل يتم التأشير به فى أصل الترخيص وفى السجل الخاص بقيد المحال والمخاون المرخص بالاتجار فيها.

مادة (٢٠) : لا يجوز للمرخص له بالتصنيع أو التجهيز أو الاتجار فى مبيدات الافات الزراعية أن يراول نشاطه بالنسبة للمبيدات فائقة وعالية الخطورة المسجلة طبقا لأحكام هذا القرار والمحددة بالملحق رقم (١١) إلا بعد الحصول على إذن خاص بالتصنيع أو التجهيز أو الاتجار فيها من لجنة مبيدات الأفات الزراعية ويسرى فى هذا الإذن لمدة سريان الترخيص بالتصنيع أو التجهيز أو الاتجار، ويتم تجديد الاذن بذات الشروط والاجراءات المنصوص عليها فى هذه المادة، وأن تميز عبوات هذه المبيدات ببطاقات استدلالية لباقى المبيدات، ويجب أن يجتاز المدير الفنى المسئول عن المصنع أو المتجر لبرنامج تدريبى متقدم ومعتمد من لجنة مبيدات الافات الزراعية.

مادة (٢١) : لا يجوز للمصانع والمتاجر والمخازن المرخص لها لتصنيع أو تجهيز أو الاتجار فى المبيدات طبقا لأحكام هذا القرار تصنيع أو تجهيز أو الاتجار فى أية مواد اخرى غير المبيدات المسجلة المرخص بها.

مادة (٢٢) : على كل من يرخص له بتصنيع أو تجهيز أو الاتجار فى المبيدات الزراعية أن يمسك سجلا مرقما ومختوما بخاتم مديرية الزراعة التابع لها لقيد المبيدات المصنعة أو المجهزة أو التى يتم الاتجار فيها. ويحتفظ بهذا السجل لمدة خمس سنوات من تاريخ أخر قيد فيه ويجب تقديمه لمن لهم صفة الضبطية القضائية عند كل طلب.

مادة (٢٣) : لا يجوز بيع المبيدات فائقة وعالية الخطورة المنصوص عليها فى المادة (٢٠) من هذا القرار إلا بموجب تذكرة صادرة ومختومة بخاتم مديرية الزراعة وتحرر بمعرفة مدير ادارة المكافحة بناء على توصية المشرف

الزراعى بعد معاينة المساحة المطلوب علاجها والمحصول الموجود بها، وتتضمن التذكرة ما يأتى:

أ- تحديد المساحة المطلوب علاجها وموقعها ونوع المحصول الموجود بها

ب- اسم الآفة أو الآفات المستهدف مكافحتها.

ج- اسم المبيد وكميته ومعدل استخدامه.

وفى جميع الأحوال يجب ان يعطى التاجر للمشترى فاتورة يبين فيها اسم المبيد وكميته ونسبة المادة الفعالة فيه وصورة الستحضر مع إثبات رقم وتاريخ التذكرة المنصوص عليها فى هذه المادة بالنسبة للمبيدات فائقة وعالية الخطورة وان يحتفظ التاجر بصورة من كل فاتورة يصدرها لمدة خمس سنوات وأن يرفق بها تذكرة المكافحة بالنسبة للمبيدات فائقة وعالية الخطورة المشار اليها.

مادة (٢٤) : يجب أن يكون الاعلان عن المبيدات أو نشر بيانات عنها مطابقا لمواصفاتها وشروط تسجيلها وتداولها وتوصيات وزارة الزراعة بشأن استعمالها، وذلك بعد موافقة لجنة مبيدات الافات الزراعية على صيغة الاعلان وتعتمد صيغة الاعلام من أمين اللجنة.

مادة (٢٥) : يتولى قسم الرقابة بالمعمل المركزى للمبيدات أخذ عينات من الرسائل المستوردة ومن كل تصنيعة للمبيدات المصنعة والمجهزة والمعباة محليا وإجراء التحاليل اللازمة عليها للتحقق من مطابقتها للمواصفات الفنية المسجلة بها وإصدار شهادة التحليل ويتم بموجبها الافراج عن الرسالة المستوردة طبقا لحكم المادة (١٣) او التصريح بتداول المصنع أو المجهز او المعبا منها محليا أو لتمديد فترة صلاحيتها.

مادة (٢٦) : يكون لمندوبى الرقابة على المبيدات ممن لهم صفة الضبطية القضائية اخذ عينات دون مقابل من المبيدات المتداولة على الوجه المبين بهذا القرار للتحقق من صلاحيتها ومطابقتها للمواصفات المسجلة بها وذلك ايا كان مكا وجودها فيما عدا الأماكن المخصصة للسكن والتحفظ عليها فى حالة الأشتباه فى غشها فى اماكن تتوفر فيها شروط التخزين السليم التى يحددها المعمل المركزى للمبيدات ويتم التحفظ بمحضر يوقع عليه من آخذ العينة وصاحب الشان او من يمثله وترسل العينات محرزة مع صورة من محضر أخذ العينة أو التحفظ الى المعمل المركزى للمبيدات لتحليلها ولا

يتم السماح بتداولها إلا بعد ظهور نتائج التحليل وثبوت صلاحيتها ومطابقتها للمواصفات وفقا للنموذج المبين بالملحق رقم (١٢).
وفى حالة ثبوت عدم الصلاحية أو المطابقة يتم اتخاذ اللازم لإخطار صاحب الشأن بصورة من شهادة التحليل ويستمر التحفظ على المبيدات المتحفظ عليها مع اتخاذ الاجراءات القانونية ضد المخالف وفى حالة ثبوت الصلاحية والمطابقة ترسل صورة من شهادة التحليل إلى صاحب الشأن وتخطر لجنة مبيدات الآفات الزرعية للإحاطة.

مادة (٢٧) : يتولى مهندس المكافحة مع مسئول الرقابة على المبيدات بالادارة الزراعية المختصة بكل مديرية زراعة الرقابة والمتابعة والتفتيش على محال الاتجار والمخازن التى توجد بها المبيدات الزراعية والكائناة فى نطاق اختصاص المديرية للتحقق من استيفاء هذه المحال والمخازن لشروط الترخيص أو الإذن المنصوص عليهما فى المادتين (١٩)، (٢٠) من هذا القرار. ولهما أخذ عينات من المبيدات من المحال والمخازن ووسائل النقل والتحفظ عليها فى حالة الاشتباه فى غشها طبقا لأحكام هذا القرار.

مادة (٢٨) : يلغى الترخيص والاذن بالاتجار فى المبيدات الزراعية المنصوص عليهما فى المادتين (١٩)، (٢٠) إذا ثبت إخلال من رخص او أذن له باى شرط من شروطهما أو مخالفة أحكام هذا القرار ويتم الالغاء بقرار من لجنة مبيدات الآفات الزراعية بناء على تقرير موقع من مدير مديرية الزراعة المختص يبين الأسباب الداعية إلى طلب إلغاء الترخيص او الاذن سالفى الذكر وبعد اخذ راى المعمل المركزى للمبيدات ويخطر من صدر له إلغاء بالترخيص أو الاذن المشار اليهما مسببا على عنوانه المبين فى طلب الترخيص أو الاذن، ولا يجوز النظر فى طلب الترخيص أو الاذن مجددا قبل مضى سنة من تاريخ الإخطار بالالغاء.

مادة (٢٩) : يجب أن يتم نقل المبيدات فى سيارات مطابقة للمواصفات والاشتراطات الفنية والبيئية مع وجود الفواتير أو المستندات المعتمدة الدالة على الشراء والجهة المنقولة منها والجهة المنقول اليها وصور شهادات تحليل المبيدات الصادرة من المعمل المركزى للمبيدات، ويجوز اجراء التفتيش واخذ

العينات على الوجه المنصوص عليه فى هذا القرار والتحفظ عليها فى حالة الاشتباه فى غشها على الوجه المبين فيه.

مادة (٣٠) : يجب على مندوب الرقابة على المبيدات أن يحرر محضر يثبت فيه أخذ العينات (خمس عينات) طبقا للملحق رقم (١٣).

يرسل محضر أخذ العينات بعد التوقيع عليه من اللجنة مع إحدى نسخ العينة الى قسم بحوث تحليل لمبيدات بالمعمل المركزى للمبيدات فورا لإجراء التحاليل عليها وتحفظ النسختان الثانية والثالثة لدى قسم الرقابة على المبيدات بالمعمل المركزى للمبيدات للرجوع اليهما فى حالة حدوث نزاع حول تيجة التحليل وتسلم النسختان الرابعة والخامسة لصاحب الشأن للاحتفاظ بهما مع توقيعه بستلامهما على محضر أخذ العينة ولا يجوز اخذ عينات اخرى من المبيدات فى حالة المنازعة فى نتيجة التحليل وتجرى إعادة التحليل على نسخ العينات المأخوذة على الوجه المتقدم.

مادة (٣١) : يتولى قسم بحوث تحليل المبيدات بالمعمل المركزى للمبيدات تحليل العينة وفقا لطريقة تحليل المبيد المتعارف عليها عالميا أو المدونة بملف تسجيله وإصدار شهادة التحليل وارسالها الى لجنة مبيدات الافات الزراعية مع بيان ملاحظاته عليها فور الانتهاء منها ويخطر صاحب الشأن بنتيجة التحليل، ويجرى التحليل بغرض التسجيل أو الافراج من الجمارك أو إعادة التعبئة أو السماح بالتداول أو التجريب بعد أداء صاحب الشأن المصروفات الفعلية، ويجرى التحليل بدون مقابل فى حالة التفتيش ويتعين حفظ عبوات العينات بقسم الرقابة على المبيدات بالمعمل المركزى للمبيدات للمدة اللازمة ولحين استغلاق باب المنازعة فى نتائج التحليل الخاصة بها.

مادة (٣٢) : لصاحب الشأن أن يتظلم من نتيجة التحليل خلال مدة لا تجاوز خمسة عشر يوما من تاريخ ابلاغه بها والا اعتبرت نتيجة التحليل نهائية، ويقدم التظلم الى المعمل المركزى للمبيدات بطلب يقدم من صاحب الشأن شخصيا أو ممن ينوب عنه ويرفق بالتظلم ما يأتي:

أ- أصل شهادة التحليل المبلغة اليه.

ب-إحدى عبوتى العينة المحفوظتين لديه.

ج- الإيصال الدال على اداء رسم التظلم.

د- الإيصال الدال على أداء مصروفات إعادة التحليل.

وتجرى اعادة التحليل بقسم بحوث تحليل المبيدات بالمعمل المركزى للمبيدات بمعرفة لجنة فنية تشكل من غير اللذين اشتركوا فى اجراء التحليل الأول بحضور المتظلم أو ندوبه على إحدى العينتين المحفوظتين لدى صاحب الشأن وذلك بعد مطابقتها للعينتين المحفوظتين لدى قسم الرقابة على المبيدات بالمعمل المركزى للمبيدات ويحرر محضر مطابقة يوقع عليه مندوبى قسم التحليل والرقابة والمنظم قبل اجراء إعادة التحليل وتكون إعادة التحليل نهائية ولا يجوز التظلم منها.

مادة (٣٣) : تعتبر الملاحق المرفقة بهذا القرار جزء لا يتجزأ منه.

مادة (٣٤) : يلغى القراران الوزاريان رقمى ٣٢٠٩ لسنة ٢٠٠٣، ١٧٣ لسنة ٢٠٠٤ وكل نص يخالف أحكام هذا القرار.

ومع ذلك تظل تراخيص التصنيع او الاتجار فى المبيدات الصادرة قبل العمل بهذا القرار سارية طبقا للقرارات التى صدرت فى ظلها، ويكون تجديد التراخيص المشار إليها بالشروط والاجراءات المنصوص عليها فى هذا القرار.

مادة (٣٥) : ينشر هذا القرار فى الوقائع المصرية ويعمل به من اليوم التالى لتاريخ نشره.

صدر فى ٢٠٠٤/١٢/٣٠

وزير الزراعة واستصلاح الأراضى
مهندس/ أحمد عبد المنعم الليثى

قرار وزارى
رقم ٣٠٦٠ لسنة ٢٠٠٤

وزير الزراعة واستصلاح الراضى

- بعد الاطلاع على قانون الزراعة الصادر البقانون رقم ٥٣ لسنة ١٩٦٦
- وعلى القرار الوزارى رقم ١٧ لسنة ١٩٩٩ بإلغاء عمل لجنة مبيدات الآفات الزراعية
- بعد الاطلاع على القرارالوزارى رقم ٢٤٠٣ لسنة ٢٠٠٤ بتشكيل لجنة مبيدات الآفات الزراعية.

قـــــرر

مادة (١): تتولى لجنة مبيدات الآفات الزراعية حصر جميع أنواع مبيدات الآفات الزراعية التى تم تسجيلها فى الفترة من تاريخ صدور القرار الوزارى رقم ١٧ لسنة ١٩٩٩ بإلغاء لجنة مبيدات الآفات الزراعية وحتى تاريخ صدور هذا القرار – وعلى اللجنة مراجعة شروط وإجراءات تسجيلها والتحقق من عدم احتوائها على مواد محظور إستعمالها دوليا طبقا للقواعد الصادرة من منظمة الأغذية والزراعة (FAO) ومنظمة الصحة العالمية (WHO) التابعتين لهيئة الأمم المتحدة وإعداد تقرير مفصل لموقف كل منها وتوصيات اللجنة فى شأن استمرار أو إلغاء تسجيلها وتداولها طبقا للقواعد والشروط المطبقة قانونا فى هذا الشأن وذلك خلال شهر من تاريخ صدرر هذا القرار.

مادة (٢): يعمل بهذا القرار من تاريخ صدوره وعلى جميع الجهات المختصة تنفيذه

صدر فى ٢٠٠٤/١٢/٣٠

ملاحـــــــــــــــق

القرار الوزارى رقم ٣٠٥٩ لسنة ٢٠٠٤

فى شأن مبيدات الافات الزراعية

ملحق رقم (١)

متطلبات تسجيل المبيد

نموذخ (أ)

طلب تسجيل مبيد افات زراعية بالنظام العادي

اسم طالب التسجيل :

(اذا كان شركة يبين نوع واسم الممثل القانونى ١,١):

عنوانــــــــــــه :

الاسم التجارى للمبيد :

الاسم الشائع :

الاسم الكيمائى :

تركيز المادة الفعالة فى المستحضر:

مصدر ومنشأ المادة الفعالة:

صورة مستحضر المبيد :

نوع الاستخــــــــــدام :

بيانات عن المبيد المماثل :

اسم ورقم تسجيل المبيد المماثل:

- الافة والمحصول.
- معدل الاستخدام للفدان الموصى به.
- المادة الفعالة وتركيزها.

جهة التصنيع (استيراد او تصنيع محلى) :

السيد الاستاذ الدكتور/رئيس لجنة التوصيات وتسجيل المبيدات بوزارة الزراعة

تحية طيبة وبعد...

ارجو التفضل باتخاذ الاجراءات اللازمة لتسجيل المبيد المشار اليه بعاليه بالنظام العادى/بالنظام بالمثل ومستعد لاداء الرسوم والمصاريف المقررة ومرفق ملف البيانات والنشرات الفنية الخاصة به والعينات اللازمة للتحاليل. مستعد لتقديم اية دراسات او بيانات فنية اخرى تطلبها اللجنة المختصة.

وتفضلوا بقبول فائق الاحترام...

توقيع الطالب

ارشادات لكتابة الانموذج (أ)

يطلب هذا النموذج من امانة لجنة التوصيات وتسجيل المبيدات بوزارة الزراعة ويتم استيفاء بياناته كالاتى:

- اسم طالب التسجيل باللغة العربية او الانجليزية او كليهما واذا كان شركة يبين نوعها واسم الممثل القانونى لها سواء كان وكيلا او مكتبا علميا او مصنع انتاج او تجهيز او تعبئة.
- عنوان طالب التسجيل داخل جمهورية مصر العربية.
- الاسم الشائع والاسم التجارى المقترح من الشركة مع ملاحظة عدم استخدام اسم تجارى سبق استخدامه لمبيد اخر او لمستحضر لنفس المبيد من مصدر اخر او اى اسم يحدث لبسا(مادة ٤).
- الاسم الكيميائى للمادة الفعالة فى المبيد والنسبة المئوية لتركيزها فى المستحضر او الخام.
- صورة مستحضر المبيد (مسحوق او مستحلب او اى صورة اخرى).
- نوع الاستخدام ويذكر به الافة والمحصول والمعدل.
- جهة التصنيع (استيراد او تصنيع محلى).

فى حالة الاستيراد يذكر اسم الجهه والبلد المستورد منها اما فى حالة التصنيع المحلى يذكر اسم المصنع ورقم ترخيصه بسجل المعمل المركزى للمبيدات ويرفق صورة الترخيص وتعامل مستحضرات مصانع المناطق الحرة معاملة المستورد.

- احتياطات التداول الامن والاسعافات الاولية.
- يقدم هذا النموذج بعد استيفاء كافة البيانات الى رئيس لجنة التوصيات وتسجيل المبيدات بعد توقيعه من قبل طالب التسجيل تقديم اى مستندات او معلومات او بيانات تطلبها منه لجنة التوصيات وتسجيل المبيدات لغرض التسجيل.

البيانات الفنية التي ترفق بملف طلب تسجيل المبيد

بيانات المبيد (المادة الفعالة)

* الاسم الشائع للمبيد المسجل بكل منظمة .(BSI) British Standard Institute Inter
(IUPAC) (ISO) International Organization for Standardization
* الاسم التجارى المقترح من الشركة للمبيد مع ملاحظة عدم استخدام اسم تجارى سبق استخدامه لمبيد اخر او مستحضر لنفس المبيد من مصدر اخر.
* رقم التسجيل المكون الفعال فى CAS Number.
* الاسم الشائع والاسم الكيميائى للمادة الفعالة فى المبيد من منظمة
(IUPAC) International Union for pure and Applied Chemistry

المكون الكيميائى للمادة الفعالة.

التركيب البنائى للمادة الفعالة.

الرمز الكيميائى للمادة الفعالة.

الرقم الكودى المسجل عليه المركب فى بلد المنشأ.

التصنيف الكيميائى للمركب طبقا للمجموعة الكيميائية التى يندرج تحتها المبيد.

الوزن الجزيئى للمبيد.

بيانات طالب التسجيل

اسم طالب التسجيل باللغة العربية والانجليزية.

عنوان طالب التسجيل داخل او خارج جمهورية مصر العربية.

البريد الالكترونى E-mail.

رقم التليفون رقم الفاكس

جنسية طالب التسجيل.

خطاب تفويض من ممثل الشركة او المكتب العلمى المفوض للتعامل مع لجنة التوصيات وتسجيل المبيدات.

البيانات التفصيلية للمصنع فى حالة التصنيع او التجهيز او اعادة التعبئة محليا.

اسم المصنع رقم الترخيص بداية الترخيص نهاية الترخيص

عنوان المصنع.

البريد الالكترونى E-mail.

رقم التليفون رقم الفاكس

فى حالة تغيير اى من هذه البيانات تخطر بذلك لجنة مبيدات الافات الزراعية لاعتماد البطاقة الاستدلالية الجديدة وذلك بعد اتمام التسجيل.

بيانات المنتج النهائى

تعريف المنتج النهائى

اسم المنتج النهائى للمستحضر.

صورة المستحضر النهائى.

اسم او اسماء المواد الفعالة وتركيزها.

الخواص الكيميائية و الطبيعية للمنتج النهائى:

اللون	Colour
الرائحة	Odour
الكثافة الكلية (بالنسبة للمواد الصلبة)	Bulk density
الكثافة والكثافة النوعية للسوائل	Density / Specific gravity
اللزوجة فى حالة السوائل	Vicosity
الضغط البخارى	Vapour pressure
التطاير	Volatility
درجة الوميض	Flash point
درجة احداث التاكل	Corrosive Hazard

ثبات المستحضر

نوع العبوة المستخدمة طبقا للمواصفات القياسية المصرية

صورة المستحضر

ظروف التخزين

فترة صلاحية التخزين

طرق التحليل المستخدمة والنتائج

<u>الخواص الكيميائية والطبيعية للمبيد (المكونات الفعالة النقية- المواد الفعالة التقنية- مركزات التصنيع)</u>

درجة النقاوة	Purity
اللون	Colour
الرائحة	Odor
الصورة الطبيعية	Physical State
نقط الانصهار او التبلور او مداها (المواد الصلبة)	Melting point or rang (solid)
نقط الانصهار او التبلور (المواد السائلة)	Melting or Crystallization point (liquids)
درجة التكثيف فى حالة المادة الغازية	Condensation point (gases)
نقطة الغليان فى حالة المادة السائلة	Boiling point (liquids)
معامل التوزيع بين الماء والاوكتانول	Octanok/ Water partition cofficient
الضغط البخارى	Vapour pressure
معامل الانكسار فى السوائل	Refractive index
طيف التوزيع فى اشعة X للمواد غير العضوية	X- ray diffraction spectrum (inorganics)
طيف توزيع للاشعة الفوق بنفسجية والطيف المرئى	UV/ visible spectrum
طيف توزيع للاشعة تحت الحمراء	IR spectrum
مطياف الكتلة	Mass spectrum
الرنين المغناطيسى	NMR spectrum
الذوبان فى الماء	Solubility in water
الذوبان فى المذيبات العضوية	Solubility in organic solvent
الكثافة والكثافة النوعية	Density/ specific gravity
درجة التحلل المائى	Hydrolysis
درجة التحلل الضوئى	photolysis
اللزوجة (للسوائل)	Viscosity (liquids)
الثبات للاكسدة فى الهواء	Oxidation stability

الثبات الحرارى Thermal stability

ثابت التفكك Dissocaition constant

بيانات المستحضر

نوع المستحضر

المحتويات الفعالة فى المستحضر

التركيز او التركيزات

بيانات عبوة المنتج النهائى

بيانات الحجم وشكل وتركيب وتبطين العبوة المناسبة المستخدمة لتعبئة المنتج النهائى.

مطابقة مواصفات العبوة طبقا للمواصفات القياسية المصرية لبروتوكول وزارة الزراعة – مركز البحوث الزراعية (بروتوكول اختبار وكفاءة عبوات مبيدات الافات الزراعية) وذلك طبقا للمادة (١٠) من القرار ٣٠٥٩ لسنة ٢٠٠٤ لعبوات المنتج النهائى.

الاستخدام

نوع الافة او الافات المستخدم لمكافحتها المستحضر.

المحصول.

معدل الاستخدام.

القابلية للخلط.

دراسات السمية

ويراعى ان تكون الدراسات المقدمة من طالب التسجيل حديثه من معامل معترف بها.

يجب ان تقدم دراسات السمية التالية:

١- ملخص عن سمية المبيد.

٢- دراسات السمية الحادة.

دراسات على المادة الخام للمكونات الفعالة (TGAC) وكذلك المادة الفعالة.

دراسات على المنتج النهائى للمركب (EUP).

٣- دراسات قصيرة المدى للجرعات المتكررة.

٤- دراسات السمية تحت المزمنة.

٥- دراسات السمية طويلة المدى.

دراسات السمية المزمنة على الغدد الصماء.

دراسات متعلقة بالاورام.

دراسات السمية المزمنة بالاضافة الى دراسات متعلقة بالاورام.

٦- دراسات السمية الخاصة بالتأثير على التكاثر.

٧- دراسات السمية الخاصة بالتأثير على النمو والتطور.

٨- دراسات السمية الخاصة بالتأثيرات الوراثية.

٩- دراسات اضافية.

سمية نواتج الايض والشوائب.

تأثيرات معاكسة اخرى.

سمية المخاليط.

١٠- دراسات سمية متعلقة بالانسان.

١١- دراسات متعلقة بالحد غير الملاحظ لتأثير المركب (NOEL).

١٢- دراسات خاصة بالتناول اليومى المسموح به.

١٣- دراسات متعلقة بأمان المركب.

الاعتبارات العامة التى يجب مراعاتها فى البيانات الخاصة بدراسات السمية:

يجب ان تكون وثائق الدراسات المقدمة كاملة ومنظمة وبها تفصيلات كافية لتسمح بالتقييم العلمى لها مع مراعاة وجود النسخ الاصلية من تقارير هذه الدراسات وفى حالة تقديم الابحاث العلمية المنشورة يجب ان يقدم البحث كاملا وليس ملخصا له.

يجب ان تتضمن الاوراق المقدمة جميع نتائج الدراسات التكسيكولوجية وتفاصيل الدراسات المخطط لعملها او الجارى عملها والتاريخ المتوقع للانتهاء منها ومتى تم اجراء التقديم المبدئى للتسجيل فانه يجب توفير الدراسات الاضافية المتعلقة بالمبيد ولن ينظر فى الدراسات الضعيفة التى ليست لها علاقة بالصحة العامة وعلى طالب التسجيل ان يقدم هذه المعلومات مجتمعة.

يجب على طالب التسجيل تقديم صور من شهادة تسجيل المبيد فى البلاد الاخرى.

يجب على طالب التسجيل تقديم كافة البيانات المتعلقة بأمان المركب وارفاق جميع هذه البيانات والدراسات بملف المبيد.

يجب على طالب التسجيل تقديم ملخص عام عن سمية المركب يشتمل على جميع المجالات المتعلقة بالسمية مع ذكر المراجع الخاصة بالدراسات المقدمة.

يجب ان يتضمن ملف تسجيل المركب قاعدة بيانات خاصة بسمية المركب تشمل على:

- التعريف بالمادة المختبرة (الخام- المنتج النهائى).
- نوع الاختبار.
- دراسات السمية الحادة.
- نوع حيوان التجارب المستخدم.
- اسم المعمل القائم بالاختبار.
- عنوان التقرير ورقمه وتاريخه.
- تاريخ اجراء الدراسة.

يجب ان يرفق بملف سمية المبيد المعلومات الخاصة بكيمياء المركب وتصنيفه وتفاصيل الخواص الكيميائية والطبيعية للمادة الفعالة وكذلك صورة الشوائب ومكونات المستحضر.

يجب تعريف الشوائب ذات الدلالة المعنوية على السمية الموجودة فى المادة الخام (TGAC) المستخدمة فى المستحضر ايا كانت نسبتها.

يجب توضيح وتعريف مكونات المستحضر والاسم ورقم CAS، كما يجب ان يحتوى على ملف التسجيل على تقارير وبحوث معملية كاملة على حيوان التجارب واى بيانات خاصة بالاتى:

- سمية المركب للانسان.
- السمية الحادة للمركب.
- سمية الجرعات المتكررة على مدى قصير.
- سمية الجرعات تحت المزمنة.
- دراسات السمية على المدى الطويل.

وكذلك بحوث السمية الخاصة بالتأثير على التكاثر والتطور والقدرة على السرطنة والتأثير الطفرى وحركية السموم والايض.

يجب ان تجرى دراسات السمية على حيوانات تجارب بالعدد اللازم للحصول على نتائج سليمة ومقبولة.

يجب ان تؤدى الدراسات الخاصة بالسمية الى بيان حد التأثير غير الملحوظ للمركب (NOEL) وان تقدم الدليل على قدرة المركب فى احداث المخاطر على فترات قصيرة وطويلة بما يمكن من حساب الامان النسبى للمركب.

يجب ان تجرى الدراسات على المادة الخام والمستحضر على ان تتضمن تفاصيل تركيب المادة المستخدمة بما فيها من مذيبات واضافات.

يجب ان تتضمن دراسات السمية الخاصة بالمركب تفاصيل عن كل من طريقة التعرض ومستويات الجرعات وعدد الحيوانات لكل مستوى جرعة ومنشأ الحيوان وجنسه (ذكر او انثى) ووزنه وعمره وجميع القياسات والملاحظات التى تمت على مدى كل دراسة ومدى تكرار حدوث هذه الملاحظات والفترة التى استغرقتها كل دراسة ومدى التعرض وعلاقته بالملاحظات والتأثيرات.

يجب ان يوضح على كل دراسة اسم وعنوان المعمل ورقم التقرير وتاريخ اجراء الدراسة وتاريخ كتابة التقرير.

دراسة المتبقيات:

يجب ان تقدم نتائج دراسات المتبقيات كما يلى:-

- ملخص لدراسات المتبقيات.
- نموذج قاعدة بيانات المتبقيات.
- المتبقيات على المحاصيل.
- متبقيات المبيدات على المحاصيل المستخدمة فى تغذية الانسان.
- متبقيات المبيدات على المحاصيل المستخدمة كعليقة للحيوان.
- المتبقيات فى حيوانات المزرعة (الدواجن... الماشية- ونواتجها... البيض واللبن)
- نتيجة التغذية على المحاصيل المعاملة.
- نتيجة المعاملة المباشرة.
- طرق تحليل المتبقيات.
- مصير المتبقيات خلال التخزين والتصنيع والطهى.

- الحدود القصوى للمبيدات وفقا لتوصيات الهيئة المصرية العامة للتوحيد القياسى (EOS و لجنة دستور الاغذية Codex Alimentaries (CCPR) وبعض الدول وكذا الحد الاقصى المقترح من طالب التسجيل.
- فترة ما قبل الحصاد.
- معاملات ما بعد الحصاد.

متطلبات خاصة بمعاملة البذور

فى حالة معاملة بذور محاصيل الحبوب يجب تقديم دراسات عن متبقيات المبيدات فى النباتات والثمار الناتجة منها مع تقديم معلومات عن مصير المركب فى الماشية والدواجن التى تغذت عليها.

دراسات اخرى

يجب تقديم بيانات لتوضيح اثر المركب على طعم المنتج المخصص للتغذية واثرة على عمليات التصنيع.

الصحة المهنية والامان

يجب تقديم بيانات كافية عن الصحة المهنية والامان على الوجه التالى:

١- بيانات التعرض المهنى
أ- عدد وفئات العمال.
ب- طبيعة العمل.
ج- حالات حماية التعرض للعمال
٢- الحالة الصحية التى تستلزم منع العامل من التعامل مع المركب
٣- رصد للصحة المهنية
أ- رصد للجو المحيط.
ب- الرصيد البيولوجى.
٤- توفير الوسائل والمعلومات
أ- بطاقة البيانات.
ب- صفحة بيانات امان المادة.
ج- التعليم والتدريب

الدراسات البيئية

كيمياء ومصير المبيد فى البيئة

طريقة القياس

يجب تقديم المعلومات وتقارير ECCP, IPCS, CSCD, US, EPA وغيرها عن كيمياء ومصير المبيدات فى البيئة كما يلى:

قياس مدى التعرض البيئى و القدرة على احداثه

أ- كمية المبيد المستخدم.

ب- تصنيع المركب الخام المصنع.

ج- مصنع تجهيز المنتج النهائى.

د- كيفية التخلص من المبيد.

ه- التسرب العرضى للمبيد.

الهدم الكيميائى و الطبيعى

- التحلل المائى
- التحلل الضوئى فى الماء او التربة

التحلل الحيوى

- تربة (هوائى ÷ لا هوائى)
- ماء

القدرة على الانتقال

- امكانية الانتقال
- التطاير
- الادمصاص والتحرر
- تكون الاورام

الاختفاء فى الحقل

- تربة
- ماء
- نبات

التراكم والايض

أ- التراكم الحيوى فى الاسماك /الاحياء المائية

ب- امكانية التراكم فى التربة

ج- تراكم او ايض فى النظم الاخرى مثل الطيور وديدان الارض

انموذج (ب)

طلب اجراء التجارب لتسجيل مبيد افات زراعية

اسم مقدم الطلب:

عنوان مقدم الطلب: تلبفون وفاكس:

رقم السجل التجارى: عنوان البريد الالكترونى:

رقم الترخيص بالاتجار فى المبيدات:

اسم المبيد التجارى:

الاسم الشائع:

مجموعة المبيد:

تركيز المادة الفعالة:

صورته:

مصدره (محلى أو مستورد):

اسم الافه:

الانتاج محلى او مستورد:

معدل الاستعمال (بالنسبة للفدان او كل ١٠٠ لتر ماء او غير ذلك بحسب الاحوال):

اسم المحصول (يذكر نوع النبات) المطلوب استخدامه عليه:

موسم التجريب:

ملاحظات عن طريقة الاستعمال:

نتيجة التحليل الكيماوى لعينة التجريب:

السيد الاستاذ الدكتور/ رئيس لجنة التوصيات وتسجيل المبيدات

تحية طيبة وبعد ...

ارجو اجراء التجارب للمبيد المشار اليه بالطلب توطئة لتسجيله فى ضوء الملف الخاص بالمبيد والعينات المرفقة بطلب التسجيل ومستعد لدفع الرسوم والمصاريف المقررة وتقديم اى بيانات.

توقيع الطالب

---

* اذا كان الطالب شركة يذكر اسم الشركة ونوعها واسم الممثل القانونى لها

- يقدم طلب عن كل مبيد
- يقدم الطالب مع طلب التجريب نتيجة التحليل الكيميائى والطبيعى لعينة التجريب.

نموذج (ج)

طلب اجراء التحليل لمبيد افات زراعية

تاريخ تقديم الطلب:

اسم الطالب:

عنوان الطالب:

كمية المبيد:

رقم وتاريخ التسجيل بوزارة الزراعة:

الغرض من طلب التحليل:

تاريخ الوصول (فى حالة الاستيراد):

او تاريخ ورقم التشغيلة (فى حالة المصنع محليا):

اسم الجهه المستورد منها:

او المصنع فيها المبيد محليا:

ميناء الوصول:

او تاريخ الانتاج المحلى:

رقم وتاريخ الترخيص بالاستيراد:

او رقم الترخيص بتشغيل المصنع المحلى:

السيد الاستاذ الدكتور/ مدير المعمل المركزى للمبيدات

تحية طيبة وبعد ...

ارجو التفضل باجراء التحاليل اللازمة للمبيد المشار اليه عالية واصدار شهادة التحليل الخاصة به طبقا للبيانات الموضحة بهذا الطلب ومستعد لاداء المصروفات المقررة.

وتفضلوا بقبول فائق الاحترام ،،،

توقيع الطالب

- اذا كان شركة يبين نوعها واسم الممثل القانونى لها.
- يذكر ما اذا كان الطلب للافراج من الجمارك او للسماح بتداول تشغيلة المصنع منه محليا او للتأكيد وتمديد لصلاحيته او التسجيل.

نموذج (د)

اخطار توصية بمبيد

اسم الشركة/

م	المبيد	الشكل والتركيز	معدل الاستعمال	المحصول	الافه	تاريخ التوصية
١						
٢						
٣						
٤						
٥						
٦						
٧						
٨						
٩						

عضو الامانة الفنية المختص

يعتمد

امين اللجنة

جمهورية مصر العربية

وزارة الزراعة واستصلاح الاراضى

لجنة التوصيات وتسجيل المبيدات

ملحق رقم (٢)

شهادة تسجيل مبيد

PESTICIDE REGISTRATION CERTIFICATE

New Registration	تسجيل جديد
Renewal Registration	تجديد تسجيل
A. R. E. Registration no:	رقم التسجيل المحلى:
Common name:	الاسم الشائع:
Chemical name:	الاسم الكيماوى:
Code no:	الرقم الكودى:
Trade name:	الاسم التجارى المحلى:
Chemical group:	المجموعة الكيماوية:
Pesticide class:	مجموعة المبيد:
Mode of action:	طريقة التأثير:
Conc. Of active ingredient (a. i.):	تركيز المادة (المواد) الفعالة:
Formulation:	المستحضر:
Crop (s):	المحصول او المحاصيل:
Rate (s) of Application:	معدل او معدلات الاستخدام:
Company:	الشركة المنتجة:
Local company:	الشركة المحلية:
Toxicity classification of formulation. (WHO)	تصنيف سمية المستحضر
Pre- harvest Interval:	فترة ما قبل الحصاد:

تشهد وزارة الزراعة واستصلاح الاراضى ان المبيد المشار اليه عاليه قد تم تسجيله بالوزارة وذلك بناء على طلب التسجيل المقدم من:

الاسم:

العنوان:

تسرى هذه الشهادة لمدة ثلاث سنوات تبدأ من / / وتنتهى فى / /

لا يجوز تداول او استيراد او تصنيع

او الاتجار فى المبيد المشار اليه الا بعد الحصول على التراخيص والموافقات اللازمة.

فى / /

امين اللجنة

البطاقة الاستدلالية للمبيد

تصدر البطاقة الاستدلالية من لجنة التوصيات وتسجيل المبيدات وتعتمد من امين اللجنة.

وتعد بيانات البطاقة الاستدلالية بمعرفة صاحب الشأن ويتعين لصقها على عبوات المبيد لتحديد نوعيتة بما يتفق مع مواصفاته الفنية ومحاذير وشروط الاستخدام وفترات ما قبل الحصاد طبقا لما يحدده المعمل المركزى للمبيدات وعلى ان تقسم البطاقة على ثلاثة اقسام كما يلى:

<u>القسم الايمن يشتمل على:</u>

- الاستخدامات من حيث المحصول ومعدل الاستخدام والافه المستهدفه وطريقة الاستخدام وشروط المعاملة واى ملاحظات اخرى خاصة بالاستخدام.
- فترة ما قبل الحصاد (فترة الامان) لكل محصول بالايام.
- فترة الضمان ولا تزيد عن سنتين تحت ظروف التخزين الجيدة.
- سعة العبوة.

<u>القسم الاوسط يشتمل على:</u>

- الاسم التجارى للمركب وتركيزه وصورة المستحضر.
- الاسم الشائع للمادة الفعالة والنسبة المئوية لها (وزن/ وزن) او(وزن/ حجم) او(حجم/ حجم)

- النسبة المئوية للمواد الخاملة فى المستحضر.
- العلامات التحذيرية للمبيد فى ضوء تصنيفه بمنظمة الصحة العالمية.
- الشركة المنتجة وعنوانها ورقم التليفون والفاكس.
- الشركة صاحبة التسجيل وعنوانها.
- الشركة المستوردة للمستحضر او المادة الفعالة وعنوانها ورقم التليفون والفاكس والبريد الالكترونى.
- الشركة المجهزة او المعبئة وعنوانها فى حالة وجودها ورقم التليفون والفاكس والبريد الالكترونى.

القسم الايسر يشتمل على:

بيانات تحذيرية عن مخاطر المركب من حيث:

- مخاطر التداول وشروط التخزين والنقل وكيفية التعامل مع العبوة وطرق اعدام العبوات او وسيلة ارجاعها لمصادرها.

الاسعافات الاولية ومذكرة الاطباءات وتشتمل على:

- اجراءات الاسعافات الاولية فى حالات التسمم وتوجيهات ارشادية للاطباء والعقار المضاد للتسمم وكيفية استخدامه.
- تاريخ الانتاج.
- تاريخ انتهاء فترة الضمان.
- رقم التشغيله او اللوط.
- رقم التسجيل المحلى طبقا لشهادة التسجيل.

فى الهامش السفلى للبطاقة توضع العلامة التحذيرية طبقا للجدول التالى:

التقسيم	لون البطاقة	العلامة الارشادية	كلمة تحذير	سائلة LD50	صلبة LD50
IA	حمراء	جمجمة وعظمتين	شديدة السمية	٥ او اقل جزء فى المليون	٠- ٢٠ جزء/ مليون
IB	حمراء	جمجمة وعظمتين	سام جدا	٥- ٥٠ جزء/ مليون	٢٠-٢٠٠جزء/ مليون
II	صفراء	علامة X	ضار	٥٠- ٥٠٠ جزء/ مليون	٢٠٠- ٢٠٠٠ جزء/ مليون
III	زرقاء	علامة X	تحذير	٥٠٠- ٢٠٠٠ جزء/ مليون	٢٠٠٠- ٥٠٠٠ جزء/ مليون
IV	خضراء	علامة X	تحذير	٢٠٠٠- ٥٠٠٠ واكثر جزء/ المليون	٥٠٠٠ او اكثر جزء/ مليون

يتم تحديد لون البطاقة طبقا لجداول منظمة الصحة العالمية ووكالة حماية البيئة الامريكية وبناء على المنتج النهائى للمبيد.

سادسا: دلائل تسجيل الوسائل الميكروبية فى مكافحة الافات فى كندا

Pest management Regulatory Agency

Agence de reglementation de la lutte antiparasitaire

Regulatory Directive **DIR2001- 02**

Guidelines for the Registeration of

Micobial pest Control Agenst and products

This directive outlines the requirements for the registration of microbial pest control agenst and products proposed for pest management in Canada at this time. The Canadian data requirements are essentially harmonized with the United States Environmental Protection Agency. Microbial pest control agents are naturally occuring or genetically modified microorganisms. including bacteria. alage. fungi. protozoa. viruses. mycoplasmae, and related organisms.

Several regulatory proprsals, including Pro98- 01, *guidelines for the Registration of Micropial pest Control Agents and products,* dated january 30, 1998 and PRO93- 05, *Research permit Guidelines for Microbial pest Control Agents,*dated November 25, 1993. invited comments on proposed registration requirement for Microbial pest control agents. Approximately 65 detailed comments on PRO93- 05 were received from interested parties in the biotechnology, agri- food and forestry sectors, and eight comments were received on PRO98- 01 and incorporated as appropriate.

(pblic aussi en francais) **March 30, 2001**

This document is published by the Submission Management and Information Division, pest Management Regulatory Agency. For further information, please contact:

- **Publications Coodinator**
- **Pest Management Regulatory Agency**
- **Health Canada**
- **2720 Riverside Drive**
- **A.L . 6602A**
- **Ottawa, Ontario**
- **KIA 0K9**

*** Internet:**
pmra- pubications@hc-sc.gc.ca
*** www.hc-sc.gc.ca/pmra-arla/**
*** Information Service:**
1-800-267-6315 or (613) 736-3799
*** Facsimile: (613) 736-3798**

لوسائل الميكروبية لمكافحة الافات (MPCA's) والنواتج النهائية للاستخدام EP's تتعرض لقانون منتجات مكافحة الافات PCPA والتشريعات وقانون الغذاء والدواء (FDA) والتشريعات. المنتجات PCPA والتى تقدم وتستعرض بواسطة وكالة تنظيم ادارة التعامل مع الافات PMRA فى وزارة الصحة الكندية (HC) تتطلب ان كل منتجات مكافحة الافات بما فيها MPCA's وناتج EP's يجب ان تسجل قبل ان تستورد او تباع او تستخدم فى كندا. التشريعات فى القانون PCPA يتضمن كل ما يتعلق بمتطلبات وخطوات التسجيل. FDA تنظم المنتجات بما فيها MPCA's و EP's التى قد تغش الغذاء وتعتبر مواد غاشة adulterants. التشريعات قد تتطلب من القانونFDA وضع الحدود القصوى المسموح بها من مواد الغش(MRL's) فى الغذاء.

الغرض من هذه الدلائل الاستعراض العلمى والتقنى المعلوماتى المطلوب لتسجيل النواتج الميكروبية. على طالب التسجيل الاستعراض المتأنى لهذه الوثيقة والكتاب الوثائقى المرجعى للتسجيل مع ضرورة قيامه باستشارة وكالة ادارة التعامل مع الافاتPMRA قبل تقديم طلب التسجيل. متطلبات التسجيل فى هذا المقترح التنظيمى والتشريعى طورت حتى توضح كل ما يتعلق بنواحى الامان والفوائد وقيمة المنتجات الغذائية Ep's. الوسائل الميكروبية لمكافحة الافات MPCA's تتضمن الكائنات الموجودة طبيعيا او المحورة وراثيا من البكتريا، الطحالب، الفطريات، البروتوزا، الفيروسات، الميكوبلازما او الريكتسيا والكائنات الاخرى المرتبطة بها. الهيئة المنوط بها المعلوماتية تتناول بالتوازى المركبات الاخرى لمكافحة الافات ولكنها تتناول نواحى متميزة عن الوسائل الميكروبية MPCA's مثل الصفات الحيوية والمدى العوائلى والمقدرة على احداث المرضية والعدوى والثبات والتضاعف multiply والنشر disseminate.

حيث ان المنتجات الميكروبية MPCA's تشمل مدى متنوع وعريض من الكائنات الدقيقة فانه ليست كل الدراسات او البيانات المطلوبة مناسبة لكائن دقيق خاص. لذلك يكون على طالب التسجيل ان يأخذ فى الاعتبار الخصائص المميزة للكائنات الدقيقة التى يضطلعون بها عند تجهيز وتحديد المتطلبات والبروتوكولات التى يعملون من خلالها كما يكون عليهم التشاور مع وكالة الادارة مع التسجيل PMRA قبل

بداية الاختيار. بالاضافة الى ذلك فان تأجيل بعض البيانات المطلوبة تؤخذ فى الاعتبار(waivers)عندما يكون ذلك مصحوبا بأسباب علمية عقلانية.

الوكالة الكندية المعنية بادارة التعامل مع الافاتPMRA تعمل بالتناسق والاشتراك مع وكالة حماية البيئة الامريكيةEPA فى الاستعراض المشترك وتقاسم مسئولية تقييم المبيدات الميكروبية على اساس تشريعى.

وتتابعا لهذا التعاون تم وضع برنامج مشترك بين PMRA و EPA للتعامل المشترك مع المبيدات الميكروبية من خلال نظام مقترح لنظام استخدام هذه المركبات بشيوع فى الدولتين. الاستعراض المشترك يزيد من كفاءة عملية التسجيل ويسمى التسجيل المتزامن لهذه المبيدات الميكروبية فى كندا وامريكا وزيادة الحصول على وسائل جديدة تفيد فى برنامج السيطرة على الافات فى الدولتان. التقاسم الفعال يتطلب مشاركة فهم مسئوليات كل وكالة وكذلك الخطوات الشائعة وجدولة العمل. من يريد مزيد من التفصيلات عن هذا الموضوع الرجوع الى الموقع الخاص بوزارة الصحة الكندية على شبكة المعلومات بالحاسب الالى.

١ - *تعريفات يجب الالمام بها Definitions:*

- **المادة الفعالة أو الوسيلة الميكروبية لمكافحة الافات (MPCA)**: الكائن الدقيق (بكتريا- طحلب- فطر- بروتوزا- فيروس- ميكوبلازما او ريكتسيا والكائنات المرتبطة بها) واى نواتج تمثيل مرتبطة او قريبة والتى يعزى اليها التأثيرات الخاصة بمكافحة الافات.
- **كود البيانات Data code (DACP)**: كود عددى يستخدم لتعريف متطلبات البيانات الخاصة (البيانات والدراسات المعملية). يمكن الرجوع الى التذييل(I)، كود البيانات (DACO) جدول خاص عن المنتجات الميكروبية لمكافحة الافات وذلك للقائمة الكاملة للكود المعلوماتى عن الميكروبات.
- **المنطقة الايكولوجية Ecozone**: المنطقة الكبيرة والمميزه بعمومية عريضة جدا من الناحية الايكولوجية بناء على شكل المنطقة وعوامل الماء والتربة والكائنات الحية والدقيقة والعوامل الانسانية. الحواجز بين المناطق الايكولوجية يجب ان ينظر اليها على انها مناطق انتقالية وليست خطوط فاصلة مميزة (يمكن الرجوع الى التذييل السابع VII عن المناطق الايكولوجية للمبيدات الميكروبية فى كندا).

- **المنتج النهائى للاستخدام End- use product (Ep):** الوسيلة الميكروبية لمكافحة الافات(MPCA) تحتوى على منتج عليه ملصق ارشادى Labelling يشمل تعليمات الاستخدام المباشر او التطبيق المتعمد لاغراض مكافحة الافات ولكنه لا يشير الى ان المنتج قد يستخدم لتصنيع او تجهيز منتجات اخرى لمكافحة الافات. فى بعض الحالات فان هذا المنتج النهائى(EP) يكون متطابقا مع المنتج الخاص الاستخدام للتصنيع Manufacturing use products ويختصر (Mp) او المنتج التجارى للمادة الفعالة Technical grade of Active ingredient (TGAI) او وسيط المستحضر Formulation intermediate (FI). فى حالات اخرى يتم تجهيز مستحضر EP من MP عن طريق اضافة مواد المستحضر مثل مثبتات الاشعة فوق البنفسجية او مضافات الرش Spray adjuvants والمواد المعلقة Suspending agents والمواد الحاملة ومواد الكبسلة encapsulated والمواد المبللة والمركبات مانعة التعجن وهى مطلوبة لانتاج منتج مناسب للاستخدام فى مكافحة الافات. فى العديد من الحالات يتم تصنيع المنتج النهائى من خلال عملية متكاملة لتجهيز المستحضر حيث ان MP المنتج النهائى المستخدم للمستحضر لا يعتبر مركب ذات تسجيل منفصل او مستقل.
- **وسيط المستحضر Formulation intermediate (FI):** تجهيز ميكروبى يحتوى على TGAI يضاف اليه مواد اخرى مثل المواد الحافظة او المثبتات او المواد المخففة لانتاج مستحضر ميكروبى مناسب للاستخدام فى تصنيع المنتج النهائى للتطبيق الميدانى (EP).
- **الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا Genetically- Engineered Microorg anism (GEM):** كائن دقيق محور وراثيا من خلال استخدام تكنولوجيا دمج الحامض النووى فى الخارج متضمنة او بما فيها غرس العلامات الوراثية genetic markers.
- **فطرى او اهلى Indigenous:** وسيلة ميكروبية لمكافحة الافات عزلت من او معروف حدوثها فى منطقة ايكولوجية مقصودة الاستخدام.
- **الحد الاقصى للمخلفات Maximum Residue Limit (MRL):** اقصى تركيز من مخلفات المبيد(ملليجرام/ كجم) مسموح به رسميا وقانونيا فى او على الاغذية واعلاف الحيوانات.

- **المخلفات او المتبقيات Residues:** عدد الكائنات الميكروبية او الاجزاء المعرفة التى تترك على الهدف بعد التطبيق. كبديل عندما يكون ملائما فان المخلفات قد ترتبط بكمية مقاسة من المركب الكيميائى الممثل او ناتج تمثيلى من الوسيلة الميكروبية لمكافحة الافات(MCPA).
- **المنتج الخام للمادة الفعالة Technical grade of the active ingredient (TGAI):** المادة التى تحتوى على الوسيلة الميكروبية لمكافحة الافات محل التساؤل التى تنتج تجاريا او على نطاق صغير استرشادى pilot scale بطريقة و اسلوب مكافئ لعملية الانتاج التجارى المخططة والتى لا يضاف اليها اى مادة اخرى عن قصد فيما عدا اعراض نمو الوسيلة الميكروبية MPCA او لغرض التضاعف والتكرارية او التنقية التقليدية. الناتج التجارى الخام TGAI يعتبر انقى تحضير ناتج من عملية الانتاج التقليدية وهو التجهيز المعد للتوزيع او التجهيز فى الوسيط FI او النهائى EP.
- **نظام الترتيب او التصفيف فى البطاريات Tiering:** النظام متعدد المستويات او نظام الترتيب للطلبات المعلوماتية تعتبر من ملامح الاختبارات البيئية كما فى الجزء (٨) من الدلائل على المآل البيئى والجزء(٩) عن التوكسيكولوجيا البيئية. الطلبات والبيانات الابتدائية يجب ان تشمل نتائج كل الاختبارات المطلوبة بمستوياتها المختلفة خاصة البطارية Tier-I. تجدر ملاحظة ان متطلبات الاختبار تحدد بعد التشاور مع PMRA. اذا اوضح هذا الاختبار الاولى عدم وجود اضرار مؤثرة لا تكون هناك ضرورة لاية اختبارات لاحقة. اذا لوحظت تأثيرات مع اختبارات الصف الاول Tier-I فانه يطلب معلومات مناسبة من الصف الثانى Tier II وهكذا تتصاعد صفوف او بطاريات الاختبارات كلما كان ذلك ضروريا وبناء على مخرجات الدراسات السابقة.

٢- *استشارات مسبقة عن البيانات المطلوبة للتسجيل:*

هذه الدلائل تحتوى على معلومات عن البيانات المطلوبة لمختلف الوسائل الميكروبية والمنتجات الغذائية EP's. حيث ان البيانات المطلوبة للتسجيل تعتمد على النوعية والترتيب والخصائص البيولوجية لوسائل المكافحة الحيوية MPCA وكذلك على طبيعة المنتج ونظام الاستخدام المستهدف فانه يجب تشجيع طالب التسجيل على

الاتصال بالوكالة المنظمة لادارة التعامل مع الافات PMRA لتلقى المشورة قبل تقديم الملف وخلال مرحلة تطوير المنتج. الاهداف الرئيسية لهذه الاستشارات تحديد المواد المناسبة للاختبارات ودراسة البروتوكولات والبيانات التى تطلب لتسجيل منتج مقترح وكذلك نوع المعلومات المطلوبة لتعضيد التخلى عن البيانات data waivers. يجب على طالب التسجيل الاتصال بجهاز الخدمات المعلوماتية عن ادارة التعامل مع الافات للحصول على النصائح الخاصة بالاتصالات المناسبة فيما قبل تقديم الطلب او الاستشارات.

قبل طلب الاستشارة من وكالة التشريع لادارة التعامل مع الافات (PMRA) يجب على طالبى تسجيل المبيدات الميكروبية معايشة الدلائل وتجهيز وتفهم لاختيار المعلومات والبيانات المناسبة والتى تتوافق مع متطلبات التسجيل المطلوبة.

يجب تقديم حزمة المعلومات (نسختان) قبل ٤٥ يوم على الاقل من الميعاد المقترح للاجتماع. كذلك يقدم خطاب يطلب تحديد مقابلة قبل تقديم الطلب ومناقشة اجندة الموضوعات التى ستناقش كما يجب ان تتضمن خدمة المعلومات كحد ادنى المعلومات المطلوبة فى القسم (٥) الجزء الاول عن البطاقة الاستدلالية، كل ما يتعلق بالمنتج product profile ومجالات الاستخدامات المقترحة والوضع التشريعى الدولى وكذلك القسم (٥) الجزء .v.c. عن توصيف الوسائل الميكروبية فى مكافحة الافات فى هذه الدلائل. اعتمادا على مرحلة تطور المنتج المقترح يجب ان يتضمن الطلب مختصرات بسيطة عن المعلومات المتوفرة عن الفاعلية وعمليات التصنيع ومواصفات المنتج والامان على البيئة وصحة الانسان وكذلك النواحى العلمية التى تعضد التخلى عن بعض البيانات المقترحة فى بعض الحالات. يجب تقديم بروتوكولات الدراسة المقترحة اذا كانت متوفرة.

التذييل Appendix-I فى هذه الدلائل يحتوى على كود البيانات DACO فى جدول يتضمن كل البيانات التى تطلب لتسجيل المنتج الميكروبى.

على مقدمى الطلبات proponents نسخ جدول كود البيانات DACO ووضع علامة ✓ امام الخانة المناسبة فى العمود يشير الى المعلومات التى قدمت فى الحزمة المسبقة. فى الاستشارات عن المنتجات المقترحة فى المراحل الاخيرة من التطور يجب ان يوضح هذا العمود اى البيانات متوفرة واين يطلب التخلى عن البيانات. بعد

الاستشارة السابقة لتقديم الطلب فان البيانات المطلوبة لمنتج خاص ونظام الاستخدام يسجل فى جدول كودى DACO محور وتعطى نسخة لمقدم الطلب. صورة من هذا الجدول يجب ان ترفق مع طلب وبيانات التسجيل.

٣- تنظيم وتشكيل حزمة من بيانات كاملة عن المبيد الميكروبى للتقديم:

مع انشاء الوكالة التشريعية المنوطة بادارة التعامل مع الافات PMRA ودمج مختلف الوكالات المسئولة عن تشريع المبيدات فان فرص تحسين الكفاءة تم تعريفها من بين هذه الفرص الفحص والغربلة المكثفة للبيانات المقدمة مبكرا فى عملية التسجيل. غربلة وفحص ما هو مقدم يساهم بشكل كبير فى نظام التشريع من خلال تقديم وثائق وبيانات مجهزة بشكل سليم مما يعمل على المراجعة والاستعراض الجيدة خلال تحسين التداول والمسار وكذلك الاسترداد retrival. الغربلة تسهل من تعريف اوجه النقص لطالبى التسجيل مبكرا فى عملية الاستعراض والتأكيد على انه لن يسمح باستمرار المراجعة الا للبيانات والملفات الكاملة والمقبولة.

أ- **تأكيد صحة الملفات المقدمة:** خلال سبعة ايام من استلام الملفات يتم مراجعتها للتأكد من استيفاء دفع الرسوم والاشكال والبطاقات الاستدلالية والمعلومات المطلوبة تبعا لكتيب التسجيل. النقص والقصور يؤدى الى ارجاع الملفات لطالب التسجيل مع تحمله لكافة التكاليف. طالب التسجيل الذى يتأكد صحة ملفاته يقدم له كارت شكر يشمل عدد الاصدار او ما يهدف Submission number. هذا العدد يجب ان يظهر على كل ما يتعلق بهذا الملف. بمجرد التأكد من صحة الملف يتم تحويله للغربلة Screening.

ب- **غربلة الملف المقدم Submission Screen.** بمجرد الاستلام من قبل قسم غربلة وفحص الملفات المقدمة يتم فحص وغربلة الملف سواء كان خاصا بوسيلة حيوية لمكافحة الافات new MPCA او باستخدام جديد new use لمنتج نهائى EP خلال ٤٥ يوم.

اذا لم يكن هناك نقص او قصور يتم قبول الملف المقدم ويرسل الى الاقسام العلمية وثيقة الصلة بالموضوع للاستعراض والمراجعة. فى حالة وجود نقص تم تعريفه فى مكتب الغربلة يتم تلخيص هذا القصور وارساله فى خطاب موثق لطالب التسجيل. يعطى مقدم التسجيل مهلة ٤٥ يوم لاستكمال كل اوجه النقص والقصور.

اذا لم يستجيب مقدم طلب وملف التسجيل لما هو مطلوب منه او اذا كانت استجابته غير كاملة او غير مناسبة يتم سحب الملف واعادته الى طالب التسجيل وعلى نفقته الخاصة. عدد الاصدار لا يستمر صالحا لفترات طويلة. يمكن لطالب التسجيل معاودة تقديم حزمة البيانات كملف جديد.

ج- **عناصر الحزمة الكاملة للملف المقدم:** يتم مراجعة الملفات الكاملة فقط بواسطة الوكالة. فى العادة يتكون الملف من خطاب بالموضوع وصورة الطلب والرسوم واستمارة مواصفات المركب وخطابات تعضيد وتفويض عديدة وصورة البطاقة الاستدلالية ودليل تعضيد البيانات والدراسات العلمية وكذلك جميع البيانات العلمية. البيانات قد تكون مطلوبة اى require (R) او مطلوبة مشروطة Conditionally required (CR) اعتمادا على الغرض من طلب التسجيل. تجدر الرجوع الى التذييل II لمعرفة البيانات المطلوبة وتلك المشروطة الطلب. كل البيانات تعرف كمطلوبة (وكذلك بيانات مقدمة مطلوبة بشروط) خلال مرحلة الاستشارة ما قبل التقدم بمنتج خاص ويجب ان تكون مصحوبة بالمعلومات المناسبة والاشارة الى مرجعية البيانات التى سبق تقديمها او طلبات التخلى عن البيانات. يجب تقديم نسخة من جدول الكود DACO يتضمن البيانات المطلوبة

(٣-١) تنظيم البيانات التعضيدية:

البيانات التعضيدية للتسجيل تقسم الى عشرة اقسام عامة كما سيرد بعد ذلك اعداد هذه الاجزاء تعتبر مرادفات للمبيدات الكيميائية التقليدية لتسهيل ادارة التعامل مع البيانات داخل الوكالة. بعض الاجزاء لم تعرف (اجزاء ٣، ٦، ١١) لانها غير مطلوبة فى المنتجات النهائية EP's. كل جزء كبير يقسم الى تحت اجزاء كما هو موضح فى هذه الوثيقة وفى جدول الارقام الكودية DACO فى التذييل (I) على النحو التالى:

الجزء (صفر) : الدليل

الجزء (١) : البطاقة الاسترشادية ، تركيب المنتج ، نظم الاستخدام المقترحة والوضع التشريعى الدولى

الجزء (٢) : توصيف وتحليل المركب

الجزء (٤) : اختبارات صحة الانسان والامان

الجزء (٥) : تقويم التعرض

الجزء (٧) : متطلبات المخلفات فى الاغذية والاعلاف

الجزء (٨) : السلوك والمآل البيئى

الجزء (٩) : التوكسيكولوجيا البيئية

الجزء (١٠) : القيمة

الجزء (١٢) : ملخص شامل ومكثف للبيانات

أ- طلبات التخلى عن او تأجيل تقديم الطلبات الخاصة بالبيانات **Waivers**: فى حالة عدم تقديم البيانات المطلوبة يتم تقديم طلب للتخلى عن او تأجيل عمل وتقديم هذه البيانات يجب ان يتم بواسطة طالب التسجيل. هذه الطلبات يجب ان تسجل فى الدليل وتعضد ببيانات بديلة او منطقية علميا مكان البيانات المطلوبة "التعليقات comments" مجال الدليل يجب ان تستخدم لتوضيح طبيعة المعلومات مثل طلب التخلى او التأجيل، دراسة البديل ... الخ. طلب التخلى او التأجيل مع البيانات التعضيدية العقلانية او البديلة يجب ان توضع فى ملفات البيانات تحت الرقم الكودى المناسب DACO.

ب- استخدام نفس البيانات لتعضيد اكثر من كود واحد **one DACO**: عندما تستخدم البيانات مع اكثر من كود واحد يتطلب ان توضع تحت كود واحداً فقط ويشار الى الكود او الكودات الاخرى. عندما تستخدم البيانات لتعضيد طلبات الكود فى اكثر من جزء من ملف البيانات يجب ان توضع فى كلا الجزئين حيث لا يمكن الاشارة الى البيانات بين اقسام البيانات المختلفة فى الملف كما فى حالة تقسيم المحتويات فى الملف بين الاقسام المرجعية.

ج- **استخدام الدراسات المرجعية للتعبير عن البيانات المطلوبة**: يجب تسليم صور فوتوغرافية قانونية لكلا المطبوعات والاوراق الوثيقة الصلة بها الى وكالة التشريع الخاصة بادارة التعامل مع الافات PMRA. كل تقرير يجب ان يسلم تحت الرقم الكودى المناسب DACO ويوضع فى دليل كما فى التذييل III "توجيهات لعمل دليل البيانات". تعليقات مجال الدليل يجب ان تستكمل مع الاشارة للدراسات على انها منشورة published. عندما تتضمن حزمة المعلومات اكثر من عشرة دراسات مرجعية بناء على البحث المرجعى المكثف ويصبح مقبولا تلخيص هذه الاوراق فى

تقرير يتضمن معايير البحث والدليل التقليدى لكل ورقة مستقلة مع الاشارة الى تقدير الملخص كوثيقة فردية فى الدليل تحت الكود المناسب DACP.

د- بيانات عديدة او اضافية: عندما تسلم دراستان او اكثر لكود خاص فان جميع البيانات يجب ان تقدم تحت نفس الكود وتفصل بواسطة صفحات فاصلة مع لسان توصيف جانبى Side tabs. يمكن الرجوع او الاشارة للقسم (٢٠٤) تحت التعليمات الخاصة بلسان البطاقات الاستدلالية فى الصفحات المفصولة. اى خطوات تشغيل قياسية او اية معلومات اخرى (فيما عدا الدراسات المرجعية الاجنبية) تسلم مع كود DACO خاص يجب ان توضع تحت نفس الكود وتفصل بأوراق فاصلة. التعليقات الخاصة بمجال الدليل Field of index يجب ان تستخدم لتوضيح طبيعة المعلومات مثل ان يذكر "دراسة منشورة". عندما لا تكون الدراسة المقدمة مقابلة لكود خاص فانها تقدم تحت كود دراسات او بيانات اخرى فى داخل ونطاق الجزء الاساسى للبيانات كما فى حالة نظام التشغيل القياسى فى الجزء (٤) عن اختبارات صحة الانسان والامان والتى يجب ان تقدم تحت الكود ٩٠٤ فى الجزء ٥٠١٢ من هذه الوثيقة.

المراجع الاجنبية **Foreign reviews**: المراجع والدراسات الاجنبية توضع فى الكود DACO (٥٠١٢) كما فى التذييل I، كود البيانات DACO للمنتجات الميكروبية لمكافحة الافات ويوضع فى الملف الاخير مع جزء من البيانات وثيقة الصلة مثل المراجع الاجنبية عن بيانات السمية "توكسيكولوجى" فى الجزء (٤) وتوضع تحت الكود DACO 12.5.4 ولكنها توضع فى نهاية الملف الاخير للجزء (٤) فى اختبارات صحة الانسان والامان فى القسم (٥) الجزء ٥٠١٢ من هذه الوثيقة.

(٣ـ٢) تنظيم حزمة البيانات المقدمة:

مكونات الملف المقدم يجب ان تنظم كما سيأتى فيما بعد. يجب تقديم حزم مستقلة عن كل مركب مقترح مثال المادة الخام TGAI والمادة التى تستخدم فى التصنيع MP والمادة الوسيطة للمستحضر FI والمنتج النهائى للاستخدام EP. كل حزمة يجب ان تتضمن خطاب تقديم وصورة الاستخدام ومواصفات المنتج وصورة الرسوم والوثائق التعضيدية والبطاقة الاستدلالية والدليل. البيانات وثيقة الصلة يجب ان تتضمن مع كل ملف وفيما عدا او باستثناء ما اذا كانت مادة التصنيع MP والمادة الخام

TGAI متطابقة مع المنتج النهائى EP كما يجب تقديم حزمة فردية من البيانات وثيقة الصلة للملفات المرتبطة. مكونات الملف يجب ان تقدم اما فى ظرف او تجمع فى ملف فى صناديق على النحو التالى:

أ- **المظروف Envelope**: العناصر التالية من مكون عدم البيانات تقدم فى ظرف:

- خطاب تغطية والاستمارات المطلوبة ووثيقة الرسوم والتعضيد(عند طلب استمارة المواصفات يجب تقديم خمسة نسخ).
- نسختان من البطاقة (على ورق مطبوع)
- نسخة من الدليل والبطاقة (صورة الكترونية- ديسكات) تذييل ٣، ٤.
- نسخة من استمارة بيانات الامان للمادة(MSDS) للمنتج المقترح وكل مستحضر.

ب- **الملفات Binders**: اجزاء البيانات وغيرها من المعلومات المقدمة تحت الرقم الكودى DACO's مثل طلبات التأجيل او الاعفاء، المراجع الاجنبية، دراسة الغربلة... الخ يجب ان تنظم فى ثلاثة ملفات حلقية (٨,٥ x ١١ بوصة) مع اعراض مختلفة كما يقتضى الامر وبحد اقصى ٣بوصات على النحو التالى:

☚ ملحوظة: ملف الملخص ليس هو نفسه الملخصات المكثفة للبيانات. ملخصات البيانات تقدم فى ملف منفصل يصفونه "ملخصات البيانات المكثفة" يمكن الرجوع للبيانات المطلوبة فى الجزء (١٢) تحت القسم (٥) جزء ٧٠١٢ من هذه الوثيقة:

- نسخة من خطاب التقديم
- الجزء(صفر) الدليل(نسخة ورقية)
- الجزء (١): البطاقة الاستدلالية (نسخة ورقية)، بروفيل المنتج، حالة التشريع الدولى (اجزاء ١٠١ ، ٢٠١ ، ٣٠١).
- ملخصات الاجزاء ٤، ٨ ، ٩ ، ١٠(مثل الاجزاء ١٠٤ ، ١٠٨ ، ١٠٩ ، ١٠١٠): هذه الملخصات يجب ان تتضمن مع اجزاء البيانات المقابلة تحت الكود المناسب DACO.
- استمارة بيانات أمان المركب MSDS's للمنتج وكل مستحضر
- جدول الكود DACO: نتيجة للاستشارات السابقة للتقديم فان طالب التسجيل عليه ان يتسلم نسخة من البيانات المطلوبة للتسجيل فى صورة جدول وهو

تحديد لرؤية جدول DACO (التذييل I). هذه الكود DACO المعدلة يجب ان تتضمن مع الملف المقدم للتسجيل.

البيانات الاخرى كما فى الاجزاء ١٠٠٢ تنظم فى ملفات بحيث ان اجزاء البيانات المختلفة لا تدمج فى نفس الملف. عندما يكون ضروريا فان اجزاء البيانات قد تنظم فى اجزاء Volumes وكمثال فان الاجزاء الخاصة كما فى التوكسيكولوجى قد تجهز فى عدد من الاجزاء. كل ملف يجب ان يعلم بوضوح على الغلاف وظهر الملف spine كما سيتضح فيما بعد. تقسم صفحات الملف بواسطة فصلات او زوائد جانبية توضح الرقم الكودى بما يفصل بين محتويات البيانات او الارقام الكودية. عند تقديم اكثر من دراسة واحدة لكود خاص فان الامتدادات بين الفواصل يجب ان تتضمن عدد مرجعى الذى هو مستخدم فى جدول المحتويات لتوضيح موقع الدراسة الخاصة فى الملف مثل الكود DACO ٢٠٢٠٤-١ بما يوضح ان هذه هى الدراسة الاولى التى قدمت تحت الكود ٢٠٢٠٤. هذه الطريقة المرجعية تستخدم فقط فى ملفات البيانات وليس فى الدليل.

البيانات الفردية او الكودية والمرفقات يجب ان ترقم وتوضح فى صفحات بشكل منطقى مع تتابع ترقيم الصفحات بداية من الصفحة (١). كل المعلومات والبيانات المقدمة يجب ان تكون صالحة واضحة ومقروءه Legible.

ج- **تعليم الملف Labelling of binders**: المعلومات التالية يجب ان توضع على غلاف وخلفية كل ملف:- اسم طالب التسجيل، اسم المنتج، الاسم العلمى للوسيلة الميكروبية فى المكافحةMPCA، عدد الجزء والعنوان، عدد الملف (من بين العدد الكلى للملفات) للجزء خاص، الرقم الكودى المتضمن فى الملف. فيما يلى امثلة عن معلومات بطاقة الملف.

XYZBiologicals Ine LEP BE-GONE flowable for forestry Active Ingredient: *Bacillus thuringiensis* Var. *Kurstaki*, strain RL.99 Part 2, Product Characterization And Analysis Volume I of 2 DOCOs 2.1-2.7 May 19. 1996	XYZ Biologicals Ine LEP BE-GONE flowable for forestry Active Ingredient:*Bacillus thuringiensis* Var. *Kurstaki*, strain RL.99 Part 2, Product Characterization and Analysis Volume 2 of 2 DOCOs 2.8-2.12 May 19. 1996

د- **محتويات الجدول**: يوضع جدول مختصر عن محتويات كل ملف عند بداية كل ملف. محتويات الجدول تشمل الرقم الكودى DACO (التى تعمل كرقم تعليمى لموقع الدراسة او المعلومات داخل الملف) وعنوان DACO ودراسة الاستشهاد (المؤلف - السنة - العنوان). فيما يلى مثال عن مدخل فردى

Short Term Dermal Hartly, M. and Murray, W.(1994) S-1234 (Technical Grade) twenty- one day dermal study in rabbit.

هـ- **عدد نسخ البيانات المطلوبة**: يتم الرجوع الى التذييل الخامس فى الاستدلال على عدد النسخ المطلوبة من اجزاء البيانات وغيرها من المعلومات المعضدة الاخرى.

س- **تسليم البيانات**: يجب التقديم المباشر لخدمة كاملة من الطلبات تتضمن صور استمارات الرسوم والبيانات والمعلومات المعضدة والوثائق الى:

Submission Management and Information Division
Pest Management Regulatory Agency
Health Canada
A. L. 6605E1
2720 Riverside Drive
Ottawa On K1A 0K9

عندما ترسل البيانات فى صناديق يجب الا يزيد وزن كل صندوق عن ٥ كجم (٣٠ كجم للكل). يجب ان تقدم كل الحزم مرة واحدة ولن يسمح بتقديم جزء من البيانات مع الاشارة الى تقديم الباقى لاحقا.

٤ـ البيانات المطلوبة لتسجيل المبيدات الميكروبية ومنتجاتها (سأكتفى بالتذييل فقط)

التذييل الاول: كود البيانات (داكو) لمنتجات الوسائل الميكروبية لمكافحة الافات:

Appendix I Data Code (DACO) for Microbial Pest Control products

Data Code (part)	Title العنوان	Data Required البيانات المطلوبة	U. S. EPA Guidelines Reference Number	Additional Information Or Conditions معلومات او ظروف اضافية
الدليل M0				الدليل
M1	البطاقة (بروفيل المنتج) الاستخدامات المقترحة والوضع التشريعي الدولي			
M 1.1	البطاقة الاسترشادية		40CFR152.50 40CFR 156	
M 1.2	بروفيل المركب ونظام الاستخدام المقترح		40CFR 158.740a 40CFR 152.50 40cfr 156	
M 1.3	وضع التشريعات الاولية للوسائل الميكروبية والمنتج النهائى			
M 2	توصيف وتحليل المنتج			
M 2.1	اسم وعنوان طالب التسجيل		40CFR 152.50	
M 2.2	اسم وعنوان المصنع للمادة الخام			
M 2.3	اسم وعنوان مصنع تجهيز المستحضرات (اذا كان مختلف عن ٢٠٢)			
M 2.4	الاسم التجارى		885.1100	
M 2.5	الاسم المزدوج (مركب ميكروبى)			
M 2.6	معلومات عن وضع الاحتكارفي كندا			
M 2.7	توصيف الوسائل الميكروبية فى مكافحة الافات			
M 2.7.1	اصل او اشتقاق وتعريف الوسائل الميكروبية للمكافحة		885.1100	
M 2.7.2	الخصائص الحيوية للوسائل الميكروبية في مكافحة الافات		885.1100	
M 2.7.3	توصيف الوسائل الميكروبية المشتقة من خلال تكنولوجيا دمج الحامض النووى			
M 2.7.3.1	الوضع التقسيمي وتوصيف العائل والمانح من بين الكائنات الدقيقة			
M 2.7.3.2	تكوين الكائن الدقيق المندمج			
M 2.7.3.3	طبيعة وتعبير المادة المحورة وراثيا			
M 2.7.3.4	التوصيف الفينولوجي للكائنات الدقيقة المحورة			
M 2.8	طرق التصنيع وضمان الجودة		885.1100 885.1200	
M 2.9	انكشاف المواد الفعال			
M 2.9.1	مواصفات المنتج		885.1500	
M 2.9.2	تقدير الكفاءة وضمان المنتج		885.1500	
M 2.9.3	المواد الفعالة غير المقصودة		885.1500	
M 2.10	بيانات وطرق التحليل			

تابع التذييل الاول: كود البيانات (داكو) لمنتجات الوسائل الميكروبية لمكافحة الافات:

Appendix I Data Code (DACO) for Microbial Pest Control products

M 2.10.1	المادة الفعالة او الوسيلة الميكروبية		885.1300	
M 2.10.2	تحليل المكونات الميكروبية		885.1300	
M 2.10.3	تحليل المواد غير المقصودة		885.1300	
M 2.11	اختبارات ثبات التخزين		885.2400	
M 2.12	اختبارات الصفات الطبيعية والكيميائية		885.1600	
M 2.13	متطلبات توصيف وتحليل منتج نهائى جديد من المركبات الميكروبية			
M 4	**اختبارات صحة الانسان والامان**			
M 4.1	**ملخص**			
M4.2	**العدوى والسمية**			
M 4.2.1	ملخص		885.3050	
M 4.2.2	العدوى الفمية الحادة والسمية		885.3050	
M 4.2.3	العدوى الحادة الرئوية والسمية		885.3150	
M 4.3	العدوى الحادة (فى الوريد او البريتونى)			
M 4.3.1	ملخص			
M 4.3.2	العدوى فى الوريد (بكتريا او فيروس)		885.3200	
M 4.3.3	العدوى فى الغشاءالبريتونى (الفطر - البروتوزا)		885.3200	
M 4.4	السمية الجلدية الحادة		885.3100	
M 4.5	الالتهابات			
M 4.5.1	ملخص			
M 4.5.2	دراسة التهابات الجلد		870.2500	
M 4.6	تقرير عن حدوث فرط الحساسية		885.3400	
M 4.7	مزارع الانسجة (الفيروسات فقط)			
M 4.8	القدرة على السمية الجينية			
M 4.9	دراسات وبيانات اخرى			
M 5.0	**تقويم التعرض**			
M8	**دراسات المخلفات في الأغذية والأعلاف**			
M 8.1	ملخص			
M 8.2	دراسات معملية			
M 8.2.1	اختبارات المزارع النقية			
M 8.2.2	اختبارات الميكروكوزم			
M 8.3	دراسات الصوب			
M 8.4	دراسات حقلية		885.5200	
M9	**التوكسيكولوجيا البيئية**			
كل دراسة يجب ان تعلم برقم كودى DACO متبوعا لعلامة عددية رومانية لتوضيح مستوى اختبارات البيانات (مثل I، II ، III ، VI)				
M 9.1	ملخص			

تابع التذييل الاول: كود البيانات (داكو) لمنتجات الوسائل الميكروبية لمكافحة الافات:

Appendix I Data Code (DACO) for Microbial Pest Control products

M 9.2	الطيور			توصيف الاختبار المطلوب يعتمد على مستوى الاختبار مستوى I: يستخدم اقصى تركيز تحدى Mcc مستوى II: اقل تركيز تحدى LCC حالة بحالة اعتمادا على نتائج المستوى I مستوى III سمية محددة مستوى IV دراسات حقلية مصغرة
M9.2.1	السمية الفمية على الطيور		885.4050	
M9.2.2	طيور عن طريق الرئة او الاستنشاق او الحمض		885.4100	
M 9.3	ثدييات برية		885.4150	See 9.2. above.
M 9.4	السمك			
M 9.4.1	اسماك المياه العذبة		885.4200	See 9.2. above.
M 9.4.2	اسماك البحار والانهار		885.4280	See 9.2. above.
M 9.5	**مفصليات الارجل**			
M 9.5.1	مفصليات الارجل الارضية		885.4340	See 9.2. above.
M 9.5.2	مفصليات الارجل المائية		885.4240	See 9.2. above.
M 9.6	اللافقاريات غير المفصلية			See 9.2. above.
M 9.7	الكائنات الدقيقة			See 9.2. above.
M 9.8	النباتات			
M 9.8.1	النباتات الارضية		885.4300	See 9.2. above.
M9.8.2	النباتات المائية	/	885.4300	See 9.2. above.
M 9.9	دراسات وبيانات اخرى			
M 10	**القيمة (بما فيها الفاعلية)**			
M 10.1	ملخص			
M 10.2	تقويم الاداء			
M 10.2	دراسات معملية او فى غرفة النمو			
M 10.2.2	دراسات حقلية		810.1000	
M 10.3	دراسات المعاملات			
M 10.3.1	التأثير السام على النباتات والمرضية النباتية			
M 10.3.2	التوافق الخلطى مع عمليات وادارة حماية المزروعات			
M 10.3.2.1	التأثيرات على أداء الوسائل الميكروبية			
M 10.3.2.2	التأثيرات على المنتج النهائى			
M 10.4	الفوائد المحصولية والانتاج			
M 10.4.1	بروفيل المنتج النهائى			
M 10.4.2	طبيعة واقتصاديات مشاكل الافات والامراض في كندا			
M 10.4.3	الوسائل والعمليات الجارية فى مكافحة الافات			

تابع التذييل الاول: كود البيانات (داكو) لمنتجات الوسائل الميكروبية لمكافحة الافات:

Appendix I Data Code (DACO) for Microbial Pest Control products

M 10.4.4	الاسهام فى استراتيجيات ادارة وتطبيقات مكافحة الافات			
M 10.5	دراسات وبيانات اخرى			
M 12				**ملخصات**
M 12.5	المراجع الاجنبية			يوخذ الكود ٥٠١ (داكو الكندية جزء رقم) عند نهاية جزء الطلب
M12.7	ملخصات شاملة		885.0001	

التذييل الثاني: عناصر الملف الكامل للتسجيل وتعديل او اجراء بحوث على منتج مكافحة الافات

بعض العناصر المجدولة ادناه مطلوبة تحت ظروف معينة او مشروطة conditionally required اعتمادا على الغرض من الملف المقدم. للحصول على معلومات اضافية يرجع الى كتاب تسجيل منتجات مكافحة الافات والتشريعات. العناصر المطلوبة تشمل:

خطاب الغلاف Covering letter: يستعرض الخطاب الغرض من الملف المقدم ووصف مختصر للحزمة المقدمة. الخطاب يشمل اسم المنتج ووصف مختصر من الغرض من الاستخدام المستهدف، الاشارة الى الطلبات المرتبطة، التاريخ وثيق الصلة بالطلب اذا كانت صالحة. البيانات لا يجب ان تتضمن جزء من خطاب التقديم. يجب ان يرفق بكل ملف خطاب مميز، خطاب الغلاف يجب ان يسلم مع الظرف (ارجع للقسم ٢٠٤). يجب ان يتضمن ملف الملخص نسخة من خطاب التقديم. نسخ خطاب التقديم. نسخ خطاب الغلاف لا يجب ان تتضمن فى ملفات البيانات.

صورة الطلب: يجب ان تكون كاملة وموقعة ومزيلة بالتاريخ

الرسوم: كما هو موضح فى استمارة التقدم فى صورة شيك مقبول الدفع للجنة الرسمية

العناصر المطلوبة المشروطة conditionally تشمل:

- استمارة مواصفات المركب
- خطاب او خطابات التأكيد: مصدر المادة او المواد الفعالة.
- خطاب او خطابات التوثيق: توضح البيانات التى قدمت قبل ذلك من شركة اخرى.

- خطاب او خطابات التوثيق: التعريف بالمركب والقائم بتجهيز المستحضرات والمستشار ... الخ.
- خطاب او خطابات التوثيق لتقاسم مرجعيات البيانات مع الدول الاخرى.
- صورة البطاقة: فى استمارات وصور الكترونية وورقية. يرجع للقسم ٥ جزء ١٠١ والتذييل الرابع IV.
- الدليل: بيانات التعضيد فى صور الكترونية وورقية. يرجع للتذييل III.
- البيانات والدراسات العلمية: تعضيد فاعلية وامان المنتجات المقترحة او التعديلات.
- المرجعيات الاجنبية: للبيانات والدراسات المقدمة اذا كانت متاحة.
- ملخص شامل للبيانات: فى توافق مع دلائل الدول الاوربية EC. يرجع الى القوانين التشريعية DIR97-01 ، DIR96-05 وملخصات شاملة للبيانات.
- طلبات التأجيل او الاعفاء: من متطلبات الدراسات والبيانات العلمية واجبة التقديم. هذه الطلبات يجب ان تسجل فى الدليل وتعضد ببيانات بديلة او معلومات علمية فى مكان الكود DACO او الدراسة.

التذييل الثالث: توجيهات لعمل دليل البيانات:

الصورة الالكترونية Electronic Format

كل البيانات والمعلومات المعضدة المقدمة التى تشمل طلبات التخلى او التأجيل والدراسات البديلة والمرجعيات الاجنبية والبروتوكولات وغربلة البيانات والدراسات والمرجعيات يجب ان تدون فى دليل فى الصورة الموضحة أدناه. العناوين الحقلية لا يجب ان توضع فى الدليل. يمكن الرجوع للامثلة:

المجال	المعلومات
– عدد الكود DACO	: ما يتمشى مع الكود "داكو" العددى– يرجع الى التذييل
– المؤلف "المؤلفون"	: اسم العائلة ، الاسم الابتدائى
– التاريخ "السنه"	: تقرير سنوى مكتوب بواسطة المعمل "ليس سنة تقديم الملف"
– العنوان	: العنوان الكامل كما فى التقرير

- اسم معمل الاختبار : عندما يكون مختلف عن اسم الشركة
- عدد اوراق تقرير معمل الاختبار : رقم تقرير المعمل المجهز والموقع بواسطة معمل الاختبار
- التاريخ الكامل : ميعاد التقرير يوم- شهر- سنه فى مكان كتابة التواريخ بالتعضيد
- اسم الشركة : التى قدمت الملف- صاحبة البيانات
- رقم تقرير الشركة : رقم تقرير الشركة الموقع بواسطة الشركة
- رقم الجزء لجزء البيانات : رقم العدد او الملف لجزء البيانات الخاص
- عدد الصفحات : العدد الكلى لصفحات الدراسة
- المدينة : لمقدم البيانات / صاحب المبيدات
- البلد : لمقدم البيانات/ صاحب المبيدات
- منشورة/ غير منشورة : يوم- شهر- سنة
- رقم EPA/ MRID : اذا كان متوفرا
- تعليقات : تعليقات الشركة مثل المرجعيات الاجنبية والمراجع العبورية

* على المتقدم ان يقدم ٣,٥ ديسكات مع دليل معلوماتى محفوظ فى استمارة دليلية AscII او Word perfect. عندما يرغب المتقدمون فى عنونة الدليل فى اوساط الكترونية مختلفة يكون ذلك تحت مسؤليتهم للتأكيد على انه لم تقتصر اى محتويات او تحدث اى تغيرات فى الاستمارات لسبب التحول. الاستمارات يجب ان تكون فى صورة ورقية مع كل خط. الديسكات يجب ان تعلم بالمعلومات الاتية:

- اسم طالب التسجيل
- اسم المنتج
- الاسم العلمى ودلالة السلالة للوسائل الميكروبية للمبيدات لمكافحة الافات
- عدد الجزء والعنوان
- تاريخ التقدم بالملف
- صورة الديسكات مثل Wordperfect or AscII

عندما يكون الموقع القياسى للمعلومات ليس متاحا او غير واضح يكون الدخول غير الدقيق N/ S مقبول. الاستثناءات تشمل:

- عندما يكون المؤلفون غير معرفين ، تستخدم مرادفات

- عندما يكون رقم التقرير معروف والمؤلفون غير معروفون يكون من الممكن الرجوع الى اسم مسئول الدراسة.

* **الفيروسات: ملحوظة:** على المتقدمين تقديم ديسكات تؤكد على الخلو من الفيروس. اى ديسكات وجد به فيروس يجب ان يعاد الى المتقدم

Examples of Index Entries

4.3.5

Hartly, M. and Murray, W.

(1994)

S- 1234 (Technical Grade) twenty- one day dermal study in rabbit

Happy Labs., United Kingdom

Report Number 007

Report Date 25 january 1994

Pesticide Company 1

N/ S

N/ S

58 pages

Bi;thoven

Netherlands

Unpublished

26 March, 1994

N/ S

4.6.4

Anonymous

(1985)

Eye Sensitivity Studies with 20% EC

Huntington Research Centre

Report No. FMT6- 85539

Report Date January 16 1985

Pesticide Company 2

Company Report No. 5

Volume 23

88 Pages

N/S

England

Unpulished

April 12. 1994

N/ S

N/ S

Hard Copy (paper) Format

An abbreviate index may be submitted as the hard copy version provided it contains the following information:

DACO

Author

Date (year)

Title (underlined)

Location of study (i. e., part number. volume number. tab number in the volume)

Total number of pages of the study or DACO

Submission Date

Comments

Example: 4.3.5 Hartly, M. and Murray. W. (1994) S- 1234 (technical Grade) twenty one day dermal study in rabbit, part 4, Vol. 1, tab 4.3.5 (58 pages). March 21 1997.

التذييل الرابع: توجيهات لعمل مسودة البطاقة الاستدلالية

المتطلبات الاساسية للبطاقة الاستدلالية سوف تستعرض فيما ادناه. للحصول على معلومات تفصيلية عن تجهيز بطاقة المنتج يرجع الى كتاب تسجيل منتجات مكافحة الافات والتشريعات (كتاب التسجيل Registration Handbook).

← **لوحة الاعلان الاساسية** Principle display panel:

١ – اسم المنتج Product name

- يجب ان يتوافق مع الموجود فى استمارة الطلب المقدم

- يجب ان يكون خاص مع المنتج ويوصف الصورة الطبيعية والغرض
- يجب الا يثير اى سوء فهم او يحتوى على صفات غير مقبولة او غير معضدة مثل طبيعى او عضوى...الخ.

٢- تحديد ووضع القسم التابع له Class designation

- بناء على الاستخدام المقصود والاضرار المؤثرة
- يجب ان يتوافق مع القسم المذكور فى استمارة الطلب المقدم
- فى العادة يقبل قسم واحد فقط لكل منتج (توجد بعض الاستثناءات مع جمع الاسم التجارى والصناعى ، والتجارى والمقيد... الخ).
- تحديد القسم يجب ان يكون واحد من الاتى:

* محلى   * تجارى (زراعى- صناعى- او مؤسسى)
* مقيد   * صناعى او تصنيعى

٣- رموز وعلامات وكلمات الاحتياطات Percautionary.

هذه المعلومات ليست ضرورية فى العادة مع المنتجات الميكروبية، هذا بينما اذا كانت مطلوبة تبعا للمعايير الموجودة فى كتاب التسجيل مثل "سم، قابل للاشتعال، قابل للانفجار، له اضرار واحداث التأكل وغير ذلك مثُ كلمات ورسومات تظهر جميعها على البطاقة الاستدلالية.

٤- قراءة البطاقة الاستدلالية قبل استخدام اى عبارة: اذا كانت بطاقات المنتج الاستدلالية تشمل كتيب او نشرة فانها يجب ان توضح على البطاقة مثل: اقرأ البطاقة والكتيب قبل ان تستخدم المركب.

٥- عبارة الضمان: الضمان المذكور على البطاقة الاستدلالية يجب ان تتوافق مع ما هو مذكور فى استمارة مواصفات المنتج وكلاهما يعكس تركيز المادة او المواد الفعالة كما هى موصوفة الجزء ٢٠٩٠٣ من هذه الدلائل.

٦- رقم التسجيل: رقم التسجيل على البطاقة يجب ان يتفق مع ما هو مكتوب وموافق عليه. يجب ان يظهر الرقم على صورة رقم التسجيل ***** قانون منتجات مكافحة الافات، واذا كان المركب تحت قسم محلى domestic والحجم عامل محدد يكون رقم التسجيل ***** P.C.P.ACT (قانون منتج مكافحة الافات).

٧- المحتويات الصافية Net contents.

- يجب ان يعبر عنها فى وحدات مترية (قد يكتب رقم رياضى بين اقواس بعد القياس المترى)
- يعبر عن السوائل فى ملليلترات (ملليلتر ml) او لترات (L) ويعبر عن المركب الصلب فى جرامات (جم) او كيلو جرامات (كجم).

٨- الاسم والعنوان البريدى الكامل لطالب التسجيل:

- يجب ان يتوافق كما فى الصندوق (٦) فى استمارة الطلب المقدم
- اسم وعنوان الوكيل الكندى يجب ان يذكر على البطاقة اذا كان مكان طالب التسجيل خارج كندا.
- رقم تليفون صاحب التسجيل يذكر على بطاقة المركبات الخام او المصنعة.

ملحوظة: مع المنتجات المصنعة تحت القسم محلى ذات الحجم الصغير فان المتطلبات ٥، ٦، ٧، ٨ المذكورة اعلاه يجب ان تظهر على لوحة الاعلان الثانوية.

لوحة الاعلان الثانوية secondary display panel:

١- توجيهات الاستخدام Directions for use

- يجب ان تشمل معلومات كاملة عن معدلات الاستخدام، كيف يستخدم المنتج ومحددات او حدوديات الاستخدام.
- مع المنتجات الخام او التصنيعية تكون التعليمات القياسية للاستخدام على النحو التالى: يستخدم فقط فى تصنيع المبيد المسجل تحت قانون منتجات مكافحة الافات. اقرأ النشرة الفنية عن تفاصيل المعلومات (يجب ملاحظة ان الكلمة مبيد افات يمكن ان يحل محلها مبيد حشرى حيوى او مبيد حشائش او فطرى حيوى).

٢- الاحتياطات precaution

- يجب ان تتضمن معلومات عن اية اضرار ترتبط بتداول وتخزين ونشر او توزيع المنتج وسبل تقليل او تجنب الاضرار.
- يجب ان تتضمن اية اضرار مؤثرة على صحة الانسان والحياة البرية او البيئية التى قد تنتج من استخدام المنتج على امتداد التعليمات عن كيفية تقليل الاضرار.
- يجب ان تتضمن الجملة: "يحفظ بعيدا عن متناول الاطفال".

٣، ٤ : الاسعافات الاولية والمعلومات التوكسيكولوجية:

هذه المعلومات ليس بالضرورة مطلوبة فى العادة مع بطاقات المنتجات الميكروبية ولكن مطلوب وضع جملة واضحة ودقيقة عن وسائل الاسعافات الاولية فى الحالات التى يملك المركب مقدرة على احداث ضرر كما يحدث فى حالات التلامس العرضى مع الجلد او الاعين او التناول او الاستنشاق.

٥ــ تعليمات التخزين: يجب ان تشمل معلومات عن ظروف التخزين الملائمة (مثل مدى الحرارة وقيود التعرض الضوئى) أو اى معلومات وثيقة الصلة تستهدف تأكيد ثبات المنتج واداءه وامانه.

٦ــ التخلص من المركب:

أ- المركبات المصنفة تحت القسم المحلى domestic

لا يجب استخدام العبوات المستعملة الفارغة. يتم التخلص من العبوات الفارغة مع قمامة المنازل.

ب- المركبات المصنفة تحت القسم التجارى Commercial

السوائل:

١- تغسل العبوات الفارغة جيدا ويضاف ناتج الغسيل لمحلول الرش فى الخزان

٢- يجب اتباع التعليمات مع اية اجراءات اضافية لتنظيف العبوات قبل التخلص منها

٣- تحطيم العبوات الفارغة بحيث لا تصلح لآية استخدامات لاحقة

٤- يتم التخلص من العبوات فى توافق مع المتطلبات المتعارف عليها.

٥- لآية معلومات تتعلق بالتخلص من المنتج الذى لم يستخدم او غير المرغوب فيه وتنظيف الاجزاء التى انتشرت يجب الاتصال بالوكالة التشريعية المختصة بهذا العمل او الاتصال بالصانع.

المواد الصلبة:

١- يتم تفريغ المحتويات فى وسيلة التطبيق.

٢- يتم تحطيم العبوة وجعلها غير صالحة لمزيد من الاستعمال.

٣- يتم التخلص من العبوات فى توافق مع التعليمات المتعارف عليها.

٤- لمزيد من المعلومات عن التخلص من العبوات التى لم تستخدم او غير المطلوبة يتم الاتصال بالجهه المسئولة او الصانع.

المركبات المصنعة فى قسم الخامات او مواد التصنيع:

القائمين بتجهيز المستخضرات من هذه المادة الخام يجب ان يتخلصوا من المادة الفعالة غير المرغوبة والعبوات بطريقة تتوافق مع التشريعات الخاصة بالبلديات او المحليات. لمزيد من المعلومات وكذلك التخلص من المواد التى انتثرت يتم الاتصال بوكالة التشريع المحلية او الصانع.

ملاحظات لمستخدم المركبات الميكروبية:

- الملاحظات التالية ضرورية ومطلوبة مع كل المركبات التى تم تصنيفها: تجارية ، مقيدة وتصنيعية.

هذا المنتج الخاص بمكافحة الافات يجب ان يستخدم فقط تبعا للتعليمات الموجودة على البطاقة الاستدلالية. من الامور التى يعاقب عليها القانون الخاص بمنتجات مكافحة الافات استخدام منتج مكافحة الافات تحت ظروف غير امنه.

ملاحظات لمشترى المبيدات الميكروبية (اختيارية)

اذا كان طالب التسجيل يرغب فى وضع تعليمات او ملاحظات للمشترى على البطاقة الاستدلالية تكون الكلمات على النحو التالى: ضمانات البائع تقتصر على كل ما هو مكتوب على البطاقة الاستدلالية وعلى المشترى ان يأخذ فى الاعتبار الاخطار على "الاشخاص والممتلكات التى تنشأ من استخدام وتداول هذا المنتج وعليه ان يقبل المركب على هذه الصورة"

نموذج مسودة البطاقة الاستدلالية
اللوحة الاساسية

LEP BE- GONE
مبيد حشرى حيوى قابل للانسياب فى الماء
مقيد الاستخدام فى الغابات
اقرأ البطاقة قبل الاستخدام
يحفظ بعيدا عن متناول الاطفال

الضمان: باسيلليس ثورينجينسيز الصنف كورســتاكى الســلالة ٩٩ rl: ١٠,٠٠٠ وحدة دولية فعالة لكل مللجم (تكافئ ١٢ بليون وحدة دولية فعالة لكل لتر)
رقم التسجيل ***** قانون منتجات مكافحة الافات
علامات ورموز الاحتياطات والكلمات التحذيرية (اذا كان ذلك ملائما)
المحتويات الصافية: ١ لتر

مؤسسة xyz للمركبات الحيوية — رقم التشغيلة (اذا كانت مطلوبة)
العنوان البريدى — تاريخ انتهاء الصلاحية (-----)
الكود البريدى فى المدينة والمقاطعة

اللوحة الثانوية:

ملاحظات للمستخدم: هذا المركب الخاص بمكافحة الافات يستخدم فقط فى توافق مع التعليمات الموجودة على البطاقة الاستدلالية. من المحظور وما يستوجب العقاب فى كل قانون منتجات مكافحة الافات التعامل مع هذه المواد تحت ظروف غير امنة.

طبيعة التسجيل: هذا المركب يستخدم فقط بطريقة موثقة ومسئولة. يجب استشارة سلطات التشريع المحلية الخاصة بالمبيدات عن السماح بالاستخدام اذا كانت مطلوبة.

الاستخدام المقيد: يستخدم ضد يرقات ديدان البراعم فى الغابات.

تعليمات: يستخدم المركب عندما تكون اليرقات فى مرحلة التغذية. لا يخلط المركب مع اية مواد اخرى. يتم رش المجموع الخضرى بمعدل ١ لتر هكتار حيث يحقق راسب متجانس على المجموع الخضرى حيث يجب ان تأكل اليرقات راسب المركب LEP BE- GONE حتى تتأثر. حجم القطرة الموصى به ١٠٠ ميكرون.

احتياطات: يحفظ بعيدا عن الوصول للاطفال. تجنب ملامسة الجلد والاعين والملابس. تغسل المناطق الملوثة بالصابون والماء بعد الاستخدام.

الاسعافات الاولية: فى حالة التلامس يتم غسل الجلد والاعين بالماء النظيف. اذا داوم حدوث الالتهابات يجب الحصول على العناية الطبية او الاتصال بمركز مكافحة التسمم.

التخزين: يخزن على درجات حرارة بين صفرم، ١٥م. تخزن العبوات فى الاتجاه لاعلى وتحفظ مغلقة تماما فى حالة عدم الاستخدام. بعد التخزين الطويل يتم رج المحتويات للتأكد من تجانس المعلق.

التخلص: لا يجب معاودة استخدام العبوات. تتبع تعليمات المقاطعة لمتطلبات تنظيف العبوات قبل التخلص منها. تحطيم العبوات غير المناسبة للاستخدام ويتم التخلص منها فى توافق مع متطلبات المقاطعة. للحصول على معلومات عن التخلص الامن من المنتج غير المطلوب وتنظيف الاجزاء الملوثة يتم الاتصال واستشارة الوكالة المختصة فى المكان او الصانع.

التذييل الخامس: الاعداد المطلوبة من نسخ المعلومات التى تعضد ملف المنتجات الميكروبية لمكافحة الافات.

Part No.	Data and information	Reviewing Division				Total No. and Copies
		SMID	HED	EAD	PSCD	
0	الدليل	1	1	1	1	4
1	البطاقة الاستدلالية بروفيل المركب ومجالات الاستخدام ملخصات استمارة بيانات امان المادة	1	1	1	1	4
2	خصائص وتحليل المركب	1			1	2
4	اختبارات صحة الانسان والامان	1	1			2
5	تقويم التعرض	1	1			2
7	دراسات المخلفات فى الغذاء والاعلاف	1	1			2
8	المصير فى البيئة	1		1		2
9	التوكسيكولوجيا البيئية	1		1		2
10	القيمة	1			1	2
12	الملخصات الشاملة للبيانات	1	1	1	1	4

* مطلوب نسخة الكترونية ونسخة ورقية فى الاستمارات التى ذكرت قبلا فى هذه الوثيقة.
* نسختان ورقيتان اضافيتان للبطاقة مطلوبتان ويجب ان يقدما فى الظرف مع خطاب وليس فى الملف ولا مع مكونات البيانات المطلوبة فى الملف
* هذه النواحى تضم فى ملف الملخص

Acronyms

EAD: Environmental Assessment Division

HED: Health Evaluation Division

PSCD: Product Sustainability and Coordination Division

SMID: Submission Management and Information Division

التذييل السادس: متطلبات اختبارات صحة الانسان والامان

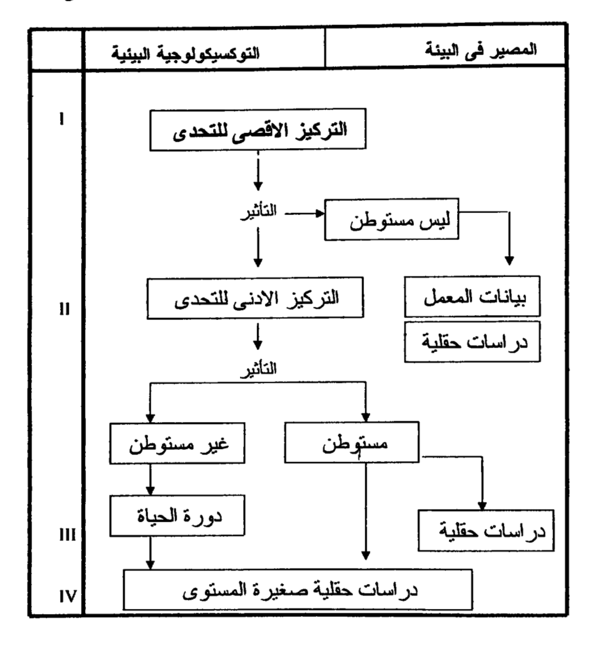
	DACO	Data Required	Test Substance
Part 4 Human Health and Safety Testing		**احتبارات صحة الانسان والامان**	
ملخص	4.1	R	
العدوى والسمية	4.2		
ملخص	4.2.1	R	

سمية حادة جرران (تفضل) الفم	4.2.2	R	TGAI
حادة رئوية جرذان (يفضل)	4.2.3	R	TGAI
حادة فى الوريد او فى الغشاء البريتونى	4.3		
ملخص	4.3.1	R	
عدوى فى الوريد (بكتريا او فيروس): فئران او هامستر حديثة الفطام	4.3.2	R	MPCA
العدوى فى البروتين (فطر او بروتوزا): فئران او جرذان	4.3.3	R	MPCA
سمية حادة عن طريق الجلد: جرذان	4.4	R	EP
الالتهابات	4.5		
ملخص	4.5.1	R	
دراسة التهابات الجلد: جرذان	4.5.2	R	EP
تقدير حدوث فرط الحساسية	4.6	R	MPCA or EP
مزارع الانسجة (وسائل فيروسية فقط)	4.7	R	MPCA
السمية الجينية المؤثرة (فطريات او اكتينوماسيتس)	4.8		MPCA

التذييل السابع: المناطق الايكولوجية للمبيدات الميكروبية فى كندا:



التذييل الثامن: مراحل وبطاريات اختبارات التوكسيكولوجيا البيئية والسلوك فى البيئة



التذييل التاسع: متطلبات اختبارات التوكسيكولوجيا البيئية والسلوك البيئى:

Test	DACO	Use Pattern				Test Substance	Type of Test
		Terrestrial	Aquatic		Greenhouse		
Tier 1							
الطيور مع الفم	9.2.1	R	R	R	CR	TGAI or EP	MCC
الطيور عن طريق الرئة والاستنشاق والحقن	9.2.2	R	R	R	CR	TGAI or EP	MCC
الثدييات البرية	9.3	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	MCC
اسماك المياه العذبة	9.4.1	R	R	R	CR	TGAI or EP	MCC
اسماك البحار والانهار	9.4.2	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	MCC
مفصليات الارجل: (ارضية)	9.5.1	R	R	R	CR	TGAI or EP	MCC
مفصليات الارجل: (مائية)	9.5.2	R	R	R	CR	TGAI or EP	MCC
غير مفصليات الارجل اللافقاريات الارضية	9.6.1	R	R	R	CR	TGAI or EP	MCC
اللافقاريات غير مفصليات الارجل: مائية	9.6.2	R	R	R	CR	TGAI or EP	MCC
الكائنات الدقيقة	9.7	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	MCC
النباتات: الارضى	9.8.1	R	R	R	CR	TGAI or EP	MCC
النباتات: المائية	9.8.2	R	R	R	CR	TGAI or EP	MCC
البطارية II							
الطيور / الفم	9.2.1	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	LCC
الطيور عن طريق الرئة الاستنشاق او الحقن	9.2.2	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	LCC
الثدييات البرية	9.3	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	LCC
اسماك الماء العذبة	9.4.1	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	LCC
اسماك البحار والانهار	9.4.2	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	LCC
مفصليات الارجل: ارضية	9.5.1	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	LCC
مفصليات الارجل: مائية	9.5.2	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	LCC
لا فقاريات غير مفصليات الارجل: ارضية	9.6.1	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	LCC
لا فقاريات غير مفصليات الارجل: مائية	9.6.2	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	LCC
كائنات دقيقة	9.7	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	LCC
النباتات: الارضية	9.8.1	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	LCC
النباتات: مائية	9.8.2	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	LCC
المصير فى البيئة اختبار المزرعة النقية	8.2.1	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	NA
المصير فى البيئة اختبار الميكروكوزم	8.2.2	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	MCC
المصير فى البيئة دراسات حقلية على المستوى الصغير	8.2.4	CR	CR	CR	CR	EP	MAR
Tier III							
سمية محددة لختبار على الكائنات غير المستهدفة	9.2.1-9.8.2	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	Multiple Concentration
دورة الحياة دراسات على الكائنات غير المستهدفة :	9.2.1-9.8.2	CR	CR	CR	CR	TGAI or EP	EEC
المصير فى البيئة- تجارب حقلية على المستوى الصغير	8.2.4	CR	CR	CR	CR	EP	MAR
Tier IV							
التوكسيكولوجيا البيئية: دراسات حقلية مصغرة	9.2.1-9.8.2	CR	CR	CR	CR	EP	MAR

للأستخدامات في الصوب الزراعية فأن الحاجة للأختبارات البيئية تعتمد بدرجة كبيرة علي النوع (التصميم وامكانيات تشغيل الصوبة التي يستخدم فيها المنتج النهائي EP) ودرجة التعرض البيئي (المستوي....) المشترك تحت ظروف التشغيل والاستخدام يوصي بالاستشارة المسبق مع وكالة PMRA لتعريف متطلبات البيانات الخاصة للوسيلة (الميكروبية لمكافحة الافات تحت التناول MPRA).

التذييل العاشر: الاختبارات التوكسيكولوجية غير المستهدفة:

Non- traget to be Tested للكائن غير المستهدف	Form of Microbial Agent صورة المستحضر الميكروبى	Type of Test نوع الاختبار	Tier البطارية
- المرتبطة تقسيميا - معدية بواسطة الوسيلة الميكروبية - تعرض عالى مؤثر - نفس الفسيولوجية - حساسة للمرضات المرتبطة - انواع ممثلة من (V) مجاميع تقسيمية عريضة	TGAI or EP	التركيز الاقصى للتحدى	I
الانواع التى تأثرت عكسيا من اختبارات توكسيكولوجيا البطارية I	TGAI or EP	التركيز القليل للتحدى	II
الانواع التى تأثرت عكسيا من اختبارات توكسيكولوجى البطارية II	TGAI or EP	تقدير الجرعة النصفية LDS'o والتركيز النصفى LIS'o القاتل والتركيز الفعال ECS'o واختبارات دورة الحياة	III
الانواع التى تأثرت عكسيا من اختبارات توكسيكولوجى البطارية II	EP	دراسات حقلية صغيرة (توكسيكولوجيا بيئية)	IV

* Tier III testing is not required for indigenous MPCAs

اختبارات البطارية الثالثة غير مطلوبة اذا كانت الوسيلة الميكروبية متوطنة داخليا

التذييل الحادى عشر: المقترح التقسيمى لاختيار المفصليات الارجل غير المستهدفة

Group المجموعة	Freshwater المياه العذبة	Estuarine or Marine مياه الشواطئ والبحار	Terrestrial الارضية
Arachnida	Araneae		Araneae Scorpionida
Acari			Eriophyidae Phytoslidae Stigmaeidae Tetranychidae Tydeoidae
Crustacea	Cladocera Copepoda Decapoda Amphipoda	Anostraca Copepoda Cirripedia Mysidacea Amphipoda Decapoda	isopoda
Insecta	Ephemeroptera Odonata Plecoptera Megaloptera Trichoptera Lepidoptera Coleoptera Diptera Hymenpotera		Collembola Thysanura Dictyoptera Ispotera Grelloptera Orthoptera Psocoptera Hemiptera Heteroptera Homoptera Thysanoptera Neuroptera Coleoptera Diptera Hymenoptera Lepidoptera

التذييل الثانى عشر: المقترح التقسيمى لاختيار الانواع النباتية غير المستهدفة.

Terrestrial الارضية	Aquatic المائية
Apiaceae (Umbelliferae)	Lemnaceae
Asteraveae (Compositae)	Potomogetonaceae
Brassicaceae (Cruciferae)	Haloragaceae
Chenopodiaceae	Typhaceae
Cucurbitaceae	Cyperaceae
Fabaceae (Leguminosae)	Alismaceae
Liliaceae	
Malvaceae	
Poaceae (Gramineae)	
Polygonaceae	
Rosaceae	
Solanaceae	

التذييل الثالث عشر: قائمة الاصدارات وثيقة الصلة بالموضوع

Regulatory Authority

Pest Control Products Act and Regulations

Food and Drugs Act and Regulations

PMRA Companion Guidance Documents

Registration Handbook for pest Control Products Under the Pest Control Products Act and Regulations (Registration Handbook).

Regulatory Proposal PRO93-05 Research Permit Guidelines for Microbial Pest Control Products.

Regulatory Directive DIR93-07a; Guidelines for Efficacy Assessment of Chemical Pesticides.

Regulatory Directive DIR93- 07b. Guidelines for Efficacy Assessment of Herbicides and plant Growth Regulators

Regulatory Directive DIR93- 17 Assessment of the Economic Benefits of Pesticides.

Regulatory Directive DIR96- 01 Guidelines for Efficacy Assessment of Fungicides, Bactericides, and Nematicides.

Regulatory Proposal PRO96-01 Management of Submissions Policy.

Regulatory Directive DIR98- 01 Good Laboratory Practice.

Regulatory Directive DIR96- 05 and DIR97- 01, Comprehensive Data Summaries.

Instractions for Organizing and Formatting a Complete Submission Package for Pest Control Products (Pending Publication).

Other Publications of interest

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 1978.Microorganisms in foods, 1. Ther Significance and Methods of Enumeration. 2nd Edition. Internatioal Commission on Microbiological Specifications for Foods. University of Toronto Press, Toronto (ISPN 0-8020- 3922-6).

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 1986. Microorganisms in Foods, 2. Sampling for Microbiological Specification for Foods. University to Tornto Press, Toronto (ISPN 0- 8020- 5693- 8).

Laboratory Biosafety Guidelines (2nd Edition, 1996, Health Canada, Ottawa, Ontario, ISBN: 0662- 24214- 9).

الباب الثانى

المنظور الايكولوجى

التأثيرات المحتملة للمبيدات الحشرية الميكروبية

الفصل الأول: التأثيرات المحتملة للمبيدات الحشرية الميكروبية على مفصليات الارجل النافعة فى البيئات الأرضية

الفصل الثاني: تأثير المبيدات الحشرية الميكروبية على بيئة المياه العذبة مع التناول الخاص لبرنامج مكافحة داء المذنبات الملتحية الذى تضطلع به منظمة الصحة العالمية وبرنامج الامم المتحدة للتنمية والبنك الدولى

الفصل الثالث: التأثير الفعال للمبيدات الحشرية الميكروبية على البيئات البحرية ومصبات الانهار

الفصل الأول

التأثيرات المحتملة للمبيدات الحشرية الميكروبية على مفصليات الارجل النافعة فى البيئات الأرضية

من مقالة للباحث S.Bradleigh Vinson بقسم الحشرات بجامعة تكساس A&M محطة كوليج ـ تكساس. المكافحة الحيوية للافات الحشرية ذات تاريخ طويل يشمل استخدام الممرضات. مع الكشف عن المبيدات الحشرية المخلقة فشلت اتجاهات استخدام الممرضات ووسائل المكافحة الحيوية فى الحفاظ على مكانتها بين اقترابات الكيميائيات الفعالة غير المكلفة والمتاحة. تطور المقاومة بواسطة انواع الافات الهامة وزيادة تكلفة المركبات الجديدة مع زيادة الاهتمام بالتتابعات البيئية من استخدام للمبيدات الكيميائية ادى الى تشجيع البحث والاستثمار فى مجال المكافحة البيولوجية. ولو ان استخدام الممرضات فى مكافحة الافات ما زالت تشكل جزء صغير من صناعة مكافحة الافات الا ان استخداماتها فى تزايد مع وجود فرص عديدة لتحسين الممرضات الموجودة. هذا ولو ان هناك معطيات خاطئة حول امان الوسائل الميكروبية للمكافحة خاصة مع اللافقاريات غير المستهدفة (NTO's). من الامور ذات الاهتمام الخاص التأثيرات المؤثرة المعاكسة لاستخدام الميكروبات على مجتمع مفصليات الارجل النافعة:

التأثيرات الممكنة لممرضات الحشرات عندما تستخدم قد تكون على مجتمع الحشرات النافعة وفى الغالب تكون معقدة علاوة على انها لاقت اهتمام متوسط. الممرضات لا تؤدى فقط خفض مضار العائل او الضحية ولكنها قد تحدث عدوى مباشرة للكائنات النافعة تؤدى الى الوفاة. كذلك فان الممرض يخفض من لياقة العائل او الضحية كمصدر غذائى. هذا معناه ان التعقيد يتجاوز خفض لياقة مجموع الحشرات النافعة. بعض أشباه الطفيليات Parasitoids والمفترسات Predators قد تنشر الممرضات ميكانيكيا بين مجاميع العائل او الضحية وبعض اشباه الطفيليات قد تسبب نقل بعض الممرضات. لذلك فان الاحياء النافعة قد تلعب دورا هاما فى نشر الممرضات فى المجاميع البعيدة فى اتجاهى المساحة والوقت. هذا ولو ان نشر الممرضات فى الغالب ذات تأثيرات سالبة على مجموع الاحياء النافعة المشتركة فى العملية.

لقد تركزت كثير من الاهتمامات والبحوث على تأثيرات ممرضات الحشرات على حشرات غشائية الاجنحة المتطفلة. سواء كان ذلك يرجع او لا يرجع الى قلق ذات طبيعة خاصة لدى الباحثين فان هناك حقيقة تتمثل فى ان غشائية الاجنحة المتطفلة فى الغالب من اكثر الحشرات التى يمكن تربيتها فى المعمل (كما ان حساسيتها للامراض تأكدت كثيرا) او ان آكلات الحشرات هذه قد تعانى من خطر مرضى عالى بشكل غير عادى غير واضح. الكائنات الحية غير المستهدفة الاخرى قد تكون فى خطر خلال استخدام الكائنات الممرضة فى المكافحة. الكائنات الحية غير المستهدفة NTO's تشمل الكائنات Scavengers والانواع العامة كغذاء ومجموعة كبيرة من الحشرات النادرة. مع استثناء نحل العسل تم اهمال الملقحات. بالنسبة للمفترسات تم اختيار قليل من الانواع للدراسة. فى هذا المقام سوف نتناول التداخلات المعقدة بين الحشرات النافعة (اشباه الطفيليات، المفترسات، الملقحات) والممرضات الكبرى للحشرات (بكتريا، بروتوزا، الفطريات والنيماتودا والفيروسات). يوجد العديد من الاقترابات سوف نتناولها فى هذا السياق ولكن العلاقات الداخلية بين كل انواع الممرضات واشباه الطفيليات والمفترسات سوف تؤخذ فى الاعتبار متبوعا بالقاء الضوء عن تأثيرات الممرضات من منطلق الحشرات النافعة بما فيها الملقحات.

← الوسائل المسببة للأمراض وتداخلاتها مع المفترسات واشباه الطفيليات

البكتريا Bacteria: من أول الوسائل الميكروبية التى انتجت تجاريا بغرض مكافحة الافات كانت باسيلليس بوبيليا، باسيلليس ثورينجينسيز والتى استخدمت لما يزيد عن ٤٠ او ٣٠ عاما على التوالى. الكثير من البحوث عن الكائنات النافعة والبكتريا تضمنت الباسيلليس ثورينجينسيز فى واحد من المنتجات التجارية الخاصة هو الديبيل (معامل ابوت بشيكاغو). لقد قام الباحث Hamel ١٩٧٧ بفحص تأثيرات مستحضر ديبيل فى صورة مسحوق قابل للبلل على دودة البراعم ودودة القرون واشباه الطفيليات الخاصة بهما. بعد استخدام الديبيل زاد تطفل العمر الاول لديدان البراعم بواسطة الطفيليات كوستسيا فيوميفيرانا، جليبتا فيومفيرانا بينما تطفل الاطوار المتأخرة والعذارى بواسطة الانواع مثل فيوجينسيس هارولس، سيروماسيا او ريكوداتا، مادريميا سوندرسل تناقصت. النقص فى التطفل فى يرقات العمر الاخير والعذارى ربما ترجع الى قتل الممرض للعائل مما يقلل من توفر العائل او بواسطة القتل الاختيارى للعائل المتطفل عليه.

لقد استنتج الباحث هامل ١٩٧٧ ان زيادة التطفل بواسطة (ابانتيلس) بعد استخدام الديبيل كانت ترجع الى التطور المبكر لاشباه الطفيليات فى عوائل الطور الثانى المنبثقة وكذلك السلوك المتغير للحشرات المتطفل عليها والتى تقلل من التعرض للديبيل. على نفس المنوال فان يرقات الفراشة الغجرية يتطفل عليها بشكل كثيف بواسطة الدبابير ابانتيلس التى فيها فقط حدثت زيادة فى النسبة المئوية للتطفل فى دودة البراعم. تفسير هذا التنشيط Synergism جاء من قبل Weseloh and Andreadis ١٩٨٢ حيث وجد انه بينما اناث اشباه الطفيل C.melanoscelus لا تميز بين العوائل المعرضة للباسيلليس والسليمة بعد ٣ أيام من التعرض ولكنها اظهرت تفضيل مع الحشرات بعمر ١٠ أيام. هذه الحشرات الاخيرة تتأخر فى التطور وتكون متوفرة للتطفل لفترات طويلة. حيث ان الجرعات غير المميتة من باسيلليس ثورينجينسيز تطيل من فترة تطور الفراشة الغجرية مما يزيد من نجاح اشباه الطفيليات ومن ثم فان تأثيرات الباسيلليس على استقرار وتطور انواع خارجية التطفل مشابهه مثل C.melanoscelus تحدث. لقد تم اختيار روجاس ليمنتاريا لانها تفضل الاطوار من الاول للثالث. مع ان عدد اشباه الطفيليات البالغة تزداد عندما تربى من اليرقات المعاملة بالباسيلليس فان الحجم الصغير للعائل تغير من النسبة الجنسية تجاه الذكور.

ولو ان بعض الفوائد تحققت فان تعرض يرقات الفراشة الغجرية المتطفل عليها بواسطة C.melanoscelus الى الباسيلليس سببت زيادة فى موت العائل ومن ثم موت شبيه الطفيل. لقد سببت تعرض الباسيلليس كذلك الى تأخير فى وقت التطور ثلاثة ايام لشبيه الطفيل المستمر فى المعيشة. علاوة على ذلك يحدث نقص خروج والكفاءة التناسلية لاشباه الطفيليات التى تخرج من العوائل الممرضة للباسيلليس. العوائل المتطفل عليها يبدو انها عرضة بوجة خاص للاصابة بالباسيلليس. ولو ان استخدام الديبيل لا يتوافق مع حشرات غشائية الاجنحة المتطفلة فان المستحضر لا يقوم بالعدوى المباشرة ليرقات هذه الحشرات لكنها تقتل العائل مما يؤدى الى موت اشباه الطفيليات البالغة التى تغذت على الديبيل تأكدت من بعض الدراسات بينما أشار باحثين اخرين الى ان الجرعات المنخفضة من الديبيل التى تتغذى عليها اشباه الطفيليات البالغة تؤدى الى عدم حدوث تأثير.

نقص النسبة المئوية للتطفل فى العوائل المعرضة للباسيلليس تم اثباتها. ليس واضحا ما اذا كان التطفل المنخفض يرجع الى زيادة تحمـل العوائل المتطفل عليها الى الباسيلليس او ما اذا كانت اشباه الطفيليات تستطيع ان تميز بين العوائل الصحية

ذات نفس الحجم مع العوائل المريضة. البديل الاخير هذا يبدو انه فى صالح اشباه الطفيليات.

البكتريا S.marcescens ذات تأثير على الكائنات والاحياء النافعة. النقل الميكانيكى لهذه البكتريا فى عذارى دودة الشمع ويرقات دودة اللوز الامريكية بواسطة الة وضع بيض الطفيل من الايكونوميدى I.conquisitor والبراكونيد M.Croceipes على التوالى قد تأكدت كذلك. بينما كانت طفيل البراكونيد الذى تغذى على البكتريا حساسة فان العائل لم يكن كذلك الا اذا حدث له اجهاد. عندما تعدى البكتريا يرقات دودة اللوز الامريكية المتطفل عليها يحدث موت للعائل (وكذلك تطور شبيه الطفيل كذلك). على نفس المنوال فان بقاء معيشة اشباه الطفيليات من ثنائية الاجنحة تقل فى العوائل المعدية ببكتريا S.marcesens.

دراسة تأثيرات الممرضات البكتيرية على المفترسات تضمنت فى البداية باسيلليس ثورينجينسيز. كلا المفترس كريزوبا كارنيا وأبو العديد ذات الاحدى عشر نقطة تستهلك غذاء اقل كما زادت فترة دوام الاطوار غير الكاملة عندما تغذت على يرقات دودة ورق القطن المعدية ببكتريا الباسيلليس. هذا بينما بعض المفترسات الاخرى مثل الرواغة وغيرها لم تتأثر. بينما الاختبارات الحقلية على الباسيلليس ثورينجينسيز فى مكافحة دودة ورق القطن ادت الى خفض فى مجموع المفترس فان هذا التأثير يرجع الى خفض توفر العائل وليس بسبب اية تأثيرات مرضية مباشرة على المفترسات. فى محاولة لتقدير ما اذا كانت الضحية المعدية بالباسيلليس تضر بتغذية المفترسات ثم تغذية يرقات نطاط الكرنب ترايكوبلوزيانى فى المعدية على فرس النبى الصينى لمدة خمسة ايام بدون اية تأثيرات مرضية. لقد اوضح الباحثان Wicht and Rodriguez (١٩٨٢) ان الباسيلليس ثورينجينسيز ليس لها اية تأثيرات خطيرة على نوعين من الاكاروسات المفترسة والتى تفترس بيض الذباب المنزلى ويرقات العمر الاول. كذلك وجد حامد ١٩٧٩ ان الباسيلليس كورستاكى ليس لها تأثير على البق المفترس. حتى المواد الحاملة الزيتية التى استخدمت مع معلق الدبيبل القابل للاستحلاب لم تغير من امان الباسيلليس ثورينجينسيز على الكريزوبا كارنييا ولا على الهيبوديميا كونفيرجينز.

ولو ان البكتريا مثل الباسيلليس ثورينجينسيز لا تضر بالمفترسات الا انها قد تداوم المعيشة فى داخلها وتحدث فى اخراج الفضلات. لقد اشار الباحثان Capinera and Barbosa (١٩٧٥) الى ان مفترس الفراشة الغجرية كالوسوما سيكوفانتا تتغذى

على يرقات مريضة تحتوى على خلايا مطابقة تماما للاستربتوتوكس فيكا ليس وهو مرض L.dispar. من البيانات المتاحة يبدو ان المفترسات تقاوم العدوى بعد اصابة ضحاياها بالبكتريا ولكنها قد تلعب دورا فى انتشار المرض.

البروتوزا Protozoa: لقد استعرض Brooks (١٩٧٣) الدراسات المرجعية المتعلقة بالتداخلات بين اشباه الطفيليات والبروتوزا وعوائل اشباه الطفيليات. لقد لاحظ ان الباحث Paillot (١٩٢٣) كان اول من اقترح ان اشباه الطفيليات قد تعمل كناقلات للامراض البروتوزية. لقد لاحظ بايلوت ان كل ديدان القارضة اجروتس برونيوبانا المعدية بالسوطيات ليبتوموناس شاتونى كان متطفل عليها ايضا بواسطة امبليشارماثوريس من عائلة ايكونوميدى. لقد اشار هذا الباحث كذلك ان ابى دقيق الكرنب المعدى بالبروتوزا كان متطفل عليه عادة بواسطة كوتيسيا (ابانتيليس) جلوميراتا. لقد تأكدت افكار بايلوت بعد ذلك بواسطة الباحثان ايسى وماسيلنكوفا (١٩٦٦) اللذان اظهرا ان التوتيسيا جلوميراتا كانت مسؤلة عن توزيع ونشر مرض النوزيما مسينيلى فى مجموع ابى دقيق الكرنب. بعد دراسات بايلوت اقترح العديد من البحاث ان اشباه القلويات كانت قادرة على نقل الامراض البروتوزية ولكن البيانات المتاحة عن هذا الموضوع قليلة. من التقدير المبكر للباحثان ايسى وماسلينكوفا اشار العديد من الباحثين الى ان الطفيليات تنقل البروتوزا ميكانيكيا من العوائل المصابة الى العوائل غير المصابة.

هذا ولو انه من الواضح ان ليست كل اشباه الطفيليات قادرة على نقل البروتوزا. لم يتمكن الباحثان لوجى سليمر وأدمز اثبات نقل النيوجريجارين بواسطة الدبور براكون ميليثور من يرقات سوسة لوز القطن المصابة الى السليمة. عدم قدرة اشباه الطفيليات على نقل البروتوزا من العوائل المصابة الى السليمة تأكدت بواسطة العديد من البحاث. احد تفسيرات هذا الوضع جاء من الباحث Masera (١٩٤٨) الذى اشار الى ان ابى دقيق الكرنب المصاب بالنوزيما لا يتطفل عليه بواسطة C.glomerata بينما كانت كل اليرقات المتطفل عليها خالية من النوزيما مما ادى الى الاقتراح بان الكوتيسيا جلوميراتا تختار يرقات العائل السليمة.

بالرغم من ان بعض الباحثين لم يتمكنوا من اثبات نقل البروتوزا بواسطة اشباه الطفيليات من العوائل المصابة الى السليمة عن طريق النقل الميكانيكى على سبيل المثال الا انهم قدموا الدليل على ان دبور البراكون البالغ المتطفل على سوسة لوز القطن يستطيع نقل المرض عن طريق المبايض. فى السابق اشار الباحث Lipa

(١٩٥٧) ان الابانتيلس ينقل النوزيما عن طريق المبايض للعائل مما ادى الى الاقتراح بان الجراثيم من العائل تدخل شبيه الطفيل المتطور وتهاجر الى المبايض حيث تغرسها فى البيض. نقص العدوى فى شبيه الطفيل ادى بالباحث بروك الى التساؤل عن اقتراح الباحث ليبا عن كيف تدخل الجراثيم الى بيض شبيه الطفيل. لقد لاحظ الباحث Blunk (١٩٤٩) وجود جراثيم الميكروسبوريديا فى بيض اشباه الطفيليات المصابة. منذ ذلك الحين والعديد من الباحثين اشاروا الى ان اشباه الطفيليات تستطيع نقل البروتوزا عن طريق المبايض الى العوائل السليمة.

بينما ان اشباه الطفيليات قد تنشر البروتوزا خلال مرحلة التبويض Oviposition الى العوائل السليمة بواسطة كلا النقل الميكانيكى وعن طريق المبايض فان تطور كلا الكائنات داخل العائل ليس متوافقا. تأثير البروتوزا على اشباه الطفيليات وعوائلها تأكد اولا بواسطة الباحثان Allen and Brunson (١٩٤٥) اللذان اشارا الى ان العدوى بالميكروسبيريديوم فى فراشة درنات البطاطس أدت الى انتاج أشباه طفيليات مشوهة ذات فترة حياة قصيرة مع خفض فى الكفاءة التناسلية. لقد اشار الباحث Grosch (١٩٤٩) الى ان اليرقات الناضجة للدبور هابروبراكون كانت غير قادرة على التشكل بسبب امتلاء المعى الاوسط بالجراثيم. لقد اشار الباحث Thompson (١٩٨٥) ان اثنان من اشباه الطفيليات لدودة البراعم الشرقية فشلت فى التعذر عندما تطورت فى العوائل المصابة بالشبيه الطفيل جلوجيا فوميفيرانا وقد عزى الفشل الى عدم التوازن الغذائى المتسبب عن تراكم جراثيم البروتوزا فى المعدة. تراكم الجراثيم تمثل مشكلة خطيرة فى تطور اشباه الطفيليات التابعة لرتبة غشائية الاجنحة بسبب ان المعى الامامى والاوسط يكون حقيبة او او كيس اعورى غير مرتبط بالمعى الخلفى حتى التعذر.

شبيه الطفيل كوتسيا مارجينيفرتس الناتج من دودة ورق القطن المصابة بالميكروسبوريديوم ماتت عادة فى الطور اليرقى او العذرى او انتجت اشباه طفيليات بالغة صغيرة الحجم وذات عمر قصير. العدوى بالميكروسبوريديوم فى حشرات ابى دقيق الكرنب تؤدى الى وفاة شبيه الطفيل المتطور بثيرومالاس بيوباروم. لقد تأكد ان اشباه طفيليات غشائية الاجنحة حساسة للمرضات البروتوزوية ولكن ما اذا كانت هذه العدوى تحدث عن طريق الفم او اى طريق اخر غير معروفة. لقد تم دراسة العلاقة بين الممرضات نوزيما هليوسبيرس، نوزيما كامبوليتيديس واثنان من اشباه طفيليات فرط التطفل hyperparasitiod. لقد وجد ان العديد من هذه الاشباه طفيليات لابى دقيق

الكرنب ثم اصابتها بشكل كثيف بالميكروسبوريديوم الخاص بعائلها وان وجود الجراثيم فى البيض أدى الى الاقتراح الى انها على غرار اشباه الطفيليات الاولية فان اشباه فرط التطفل قادرة كذلك على التطفل عبر المبايض.

كثير من الدراسات تناول عوائل اليرقات وقد اشار الباحث Huger (١٩٨٤) الى ان شبيه طفيل البيض ترايكوجراما ايفانسيس يسهل عليه وضع البيض فى كتل بيض الحشرة O.nubilalis المعدية بالممرض نوزيما بيروستا البروتوزوى. هذا بينما تطور شبيه الطفيل داخل كتل البيض المصابة لم تتأثر الا ان اشباه طفيليات الجيل الاول F1 تم اعدادها ووصلت كفاءتها التناسلية الى ضعف كفاءة الاناث السليمة. المعلومات المتاحة الان تشير الى ان الامراض البروتوزوية تخفض من بقاء او معيشة اشباه الطفيليات وطوال فترة الحياة والكفاءة التناسلية. لقد وجد ان شبيه الطفيل بيديوبيس فوفيولاش ضد خنفساء الفول المكسيكية كان ذات حساسية عالية لاثنان من امراض النوزيما. يمكن القول بان التداخلات بين الامراض البروتوزوية واشباه الطفيليات ليست دائما ضارة على اشباه الطفيليات. لم تتأثر الكوتسيا فوميفارانا عندما حدثت عدوى لعائلها بالنوزيما لان شبيه الطفيل هذا يفقس من المراحل المبكرة للعائل وقبل ان يقتل المرض العائل.

القليل جدا من المعلومات متاحة عن المفترسات. لقد تم الوصف الكامل لوجود الميكروسبوريديوم من العديد من المفترسات الحشرية. لا توجد اية ادلة تشير الى ان العدوى كانت ترجع الى الفريسة ولو ان هذا الطريق لاحداث العدوى قد اقترح. الدليل المتوفر حاليا يشير الى ان المفترسات قد تكون مقاومة للعدوى بالممرضات البروتوزوية لفرائسها. هذا بينما انه عندما تتغذى المفترسات على عوائل مصابة بانواع فيريمورفا فان المفترسات قد تصاب ولكن تراكم الجراثيم المقاومة المهضومة فى الجهاز الهضمى لها تسبب الترجيع. اذا تغذت هذه المفترسات على عوائل سليمة وصحية بعد تناولها العوائل المصابة فانها تشفى.

الفطريات Fungi: بعض انواع الممرضات الفطرية للحشرات مثل الاسبرجللس يهاجم عدد عريض من انواع الحشرات ولكن كما لاحظ الباحث Chapman (١٩٧٩) ان هذا الجنس يجب تجنب استخدامه ضمن الوسائل الحيوية فى مكافحة الافات biocontrol agents بسبب مقدرته الكبيرة على انتاج السموم الفطرية Mycotoxin. هذا ولو ان العديد من الفطريات الممرضة للحشرات فى العادة ذات مدى عوائلى ضيق مما يقلل

من مخاطر عدوى الانواع النافعة التى تتبع اقسام تقسيمية مختلفة من الهدف. لذلك فان التعرض المباشر للملقحات البالغة والمفترسات واشباه الطفيليات للوسائل الفطرية لا يتوقع ان تسبب مشاكل خطيرة. هذا بينما المشاكل قد تحدث عندما تتداخل المفترسات واشباه الطفيليات مع العوائل المصابة.

الممرض الفطرى يتداخل مع اشباه الطفيليات كما هو الحال مع الامراض الاخرى وقد نشر هذا بواسطة بحاث كثيرون. عدم التوافق هذا incompatibility يرجع الى غزو الفطر وموت العائل وليس لغزو الفطر بشبيه الطفيل النامى فى العائل. على نفس المنوال فان انسجة شبيه الطفيل من النوع .Angitia sp لا يتم غزوها بواسطة الفطر انتيموفثورا سفيروسبيرما الذى يهاجم الفراشة ذات الظهر الماسى. خلص البحث كذلك الى ان الفطر عادة لا تغزو انسجة اشباه الطفيليات الداخلية فى العوائل المصابة ولو انه تمت الاشارة الى حالتان من بين٢٦حالة حدث فيهما غزو الفطر لشبيه الطفيليات.

توجد بعض التقارير تشير الى ان العوائل التى تأوى أشباه الطفيليات يكون فيها حساسية زائدة للعدوى بالفطر. لقد اشار Fuhrer واخرون (١٩٧٨)ان التطفل الملتهم للحشرات فى ابى دقيق الكرنب يجعل اليرقات الغازية عرضة للعدوى بالفطر بوفاريباسيانا. على نفس المنوال فان عدوى يرقات دودة اللوز H-zea بواسطة نوميوريارلاى تزيد او اذا كانت اليرقات سبق التطفل عليها او تزامن حدوث التطفل بواسطة ماكروبليتس كروسيبس. لقد ذكر Powell واخرون (١٩٨٦) كذلك ان العوائل بعمر ٢ يوم المتطفل عليها عرضة للعدوى بالفطر. لقد خلص بعض البحاث الى ان الممرضات الفطرية قد تكون ذات قدرة افضل على عدوى العوائل المتطفل عليها عن العوائل الصحية السليمة. لقد ذكر بعد ذلك بان جليد يرقات سيديابوميفيلا غير المتطفل عليها يستجيب لنفاذ البوفيريا باسيانا بواسطة التغلظ Malanization ولكن التفاعل الدفاعى هذا ينخفض بواسطة شبيه الطفيل اسكوجاستر كودارى زينتاتس. هذا بينما زيادة حساسية العائل للفطر قد تحدث فقط لفترة قصيرة بعد وضع البيض.

عندما يتعرض الذباب الابيض للتطفل بواسطة الانكارسيا فورموزا بعمر ٤ أيام للطفيل اشيرسونيا اليروريدس يكون الفطر اقل نجاحا فى عدوى العوائل. لقد حدث نفس الوضع مع كلا من الجعل الوردى ميتوبولومنيوم ديرهودوم وشبيه الطفيل الخاص به افيديس روبالوسيفاى لقد تعطل تطور الفطر عن تعرض المن المتطفل عليه لمدة ٤ أيام على الاقل الى الفطر ارينيا نيوأفيديس.

نقص حساسية العوائل المتطفل عليها الى العدوى بالفطر قد ترجع الى مادة مضادة للفطر antifungal agent تنطلق وتنفرد خلال تطور شبيه الطفيل. لقد اكتشف Fuhrer and El- sufy (١٩٧٩) ان المادة التى توقف النمو الخضرى للفطر مؤقتا Fungistatic توجد فى هيموليمف ابى دقيق الكرنب بعد فقس يرقات كوتسيا جلوميراتا. لقد ثبت ان هذه المادة تنفرد بواسطة الخلايا العجيبة المسماه teratocytes (خلايا الغشاء الجنينى لشبيه الطفيل التى تنتج مع اليرقة عند الفقس ثم تتجه للنمو بشكل مستقل فى هميولميف العائل). لقد وجدت مادة مضاد حيوى antibiotic فى هيموليف عذارى ابى دقيق الكرنب المصابة بهجوم ابرة العجوزة بمبلاتوريرنيللا من عائلة ايكونوميدى التى لا تنتج الخلايا العجيبة المسخية. فى هذه الحالة فان المادة الفعالة تدخل هيمولميف العائل كاخراج شرجى ليرقات شبيه الطفيل فان نشاطه يساهم فى التأثير التثبيطى عند DOPA- ثيروسينسز.

لو انه ظهر مؤكدا ان اشباه الطفيليات لا تستطيع الكشف عن العوائل المصابة حديثا فانها تستطيع تمييزها عند مرحلة او مراحل متقدمة من العدوى. بعد عدوى الذباب الابيض تراىاليرودس فابوراريورم لمدة سبعة أيام فان اناث شبيه الطفيل انكارسيا فورموزا تستجيب عن طريق غرس الة وضع البيض فى العوائل المصابة ولكنها لا تضع بيض. لذلك فان اناث انكارسيا فورموزا قادرة على الاحجام الاختيارى لوضع البيض فى العوائل المصابة لاكثر من سبعة ايام ولكن ملامستها العوائل المصابة تفتح امكانية نقل العدوى. لقد اقترح الباحث فوكاسوفيتس (١٩٢٥) ان اشباه الطفيليات تنقل الفطر سبيكاريافارينوزا الى عذارى بولى كروزيس بوترانا خلال عملية التبويض او وضع البيض ولكن لا يوجد دليل يؤكد ذلك. ولو انه من المقبول بوجه عام ان اشباه الطفيليات قد تعمل كناقلات ميكانيكية لبعض الممرضات فان الادلة عن نقل الفطريات ما زالت غير متوفرة. لم يتمكن الباحثان Franses and Vanlentern (١٩٨٧) من اثبات ان انكارسيا فورموزا تنقل الفطر من العوائل المصابة الى السليمة ولو ان اشباه الطفيليات تقوم بجس العوائل المصابة بالفطريات بشكل منتظم.

تأثيرات الفريسة المصابة بالفطر على المفترسات لاقت قليل من الاهتمام. ولو ان الذباب الابيض المصاب بالفطر A.aleyroides كان يستهلك بواسطة الاكاروس المفترس فيتوسيلس الا انه لم تلاحظ تأثيرات ضارة على الاكاروس. لا يوجد احتمال لنقل الاطوار الخضرية للفطريات عن طريق جنس Probing شبيه الطفيل من غشائية الاجنحة او تغذية المفترسات ولكن نشر الجراثيم مثل حبوب اللقاح بواسطة الحشرات

تكون متوقعة اذا قامت المفترسات او اشباه الطفيليات بملامسة العوائل فى مرحلة متقدمة من المرض. من المدهش انه اذا كانت بعض جراثيم بعض الفطريات الممرضة لا تجذب بعض المفترسات او اشباه الطفيليات التى يمكن ان تحمل الجراثيم ميكانيكيا لمجاميع العائل.

من الامور المثيرة للاهتمام ما لوحظ ان البينوميل وهو مبيد فطرى كارباماتى من مجموعة بنزميدازول يخفض خروج شبيه الطفيل كوتسيا مارجينفينزيس من عائلة دودة اللوز الامريكية. على نفس المنوال اشار Sewall and Croft (١٩٨٧) ان البينوميل لم يكن ساما على العمر الثالث لحشرة تورتكس البرتقال ارجيروثينيا ستيرانا عند تركيز ٣٠٠ جزء فى المليون ولكنها تؤدى الى موت شبيه الطفيل الفردى ابانتيليس اريستوتيليا داخل العائل.

النيماتودا Nematodes: لقد قام الباحث ايسهباشى واخرون (١٩٨٧) بمعاملة مالاكوسوما نيوستريا بسلالة DD-136 سنتيزنيما فيلاتيا. بعد ذلك تم تعريفها للمفترس. لقد حدث قتل ٢٠% من المفترسات بعد استهلاك الضحية المصابة ٢٤ساعة ولكنها لا تتغذى على الضحية غير المعدية التى كانت موجودة فى الاطوار المتأخرة من العدوى. على نفس المنوال فان ابى دقيق عندما تعرضت للنيماتودا DD-136 لمدة ٤ساعات فانها اصبحت غير نشطة ولم تهاجم بواسطة شبيه الطفيل ترايكومالاس اباتينلوكتينيس. هذا ولو ان النيماتوداليس لها اى تأثير على اشباه الطفيليات. عند تعريض اليرقات المصابة بالنيماتودا قبل ان تصبح غير نشيطة فانها يحدث فيها تطفل ولو ان السبب غير واضح فان خروج شبيه الطفيل انخفض. لقد وجد احد البحاث الذى قام باستخدام سلالة DD-136 ان الابانتيليس مات بسبب موت العائل قبل خروج شبيه الطفيل. اذا كان شبيه الطفيل قد يبدأ من الخروج او الانبثاق egrassion يقوم بغزل الشرنقة فانه يكون فى امان بعيدا عن العدوى. فى دراسات لاحقة تم الوصول الى ان شرانق العديد من اشباه طفيليات غشائية الاجنحة تقاوم العدوى وان الشرنقة العادية تتكون من طبقة من الحرير خالية من الثقوب والتى لا تخترق اطوار النيماتودا المصرية. لقد وجد باحثون اخرون ان عند تعريض هيبوسوتراكسيجوا بعد ثمانية ايام من التطفل داخل العائل للنيماتودا فانه بين ١٤-٣٤% من اشباه الطفيليات تم عدواها بالنيماتودا بمعدل ٥٠٠ أو ١٠٠٠ نيماتودا لكل ملليلتر على التوالى. لقد اشار تريجيانى ان

A.Ultor كانت غير قادرة على استكمال تطورها فى دودة الشمع المصابة بأى من S.Feltioc او H.heliothidis.

يبدو ان اشباه الطفيليات ليس لها تأثير على تطور النيماتودا. لقد وجد ان النيماتودا تتطور فى العوائل الحية والتى تخرج وتنبثق منها اشباه الطفيليات كما يحدث بعد التطفل مع بعض البراكويندى كما فى مجموعة الابانتيليس. لقد قام الباحث Kaya (١٩٨٧) بفحص تأثيرات S.feltine على C.comimata من عائلة تاكينيدى. لقد اشار الباحث ان العوائل المتطفل عليها التى تعرضت للنيماتودا بعد ١، ٢، ٣ أيام من التطفل ادت الى موت العائل وشبيه الطفيل. هذا ولو انه اذا حدث تعذر لشبيه الطفيل فانه لا يتأثر. اذا تعرض التاكينيدى myxexoristops sp الى النيماتودا S.kraussei مبكرا فى مرحلة تطورها داخل العائل فانها يحدث لها غزو بواسطة النيماتودا وتموت. هذا بينما اذا تعرضت متأخرا فى مرحلة التطور الى النيماتودا فان التاكينيدى تقاوم العدوى وتكون قادرة على استكمال تطورها. البيانات المتوفرة تقترح انه اذا تعرضت المفترسات للاطوار المعدية من النيماتودا فان بعض العدوى قد تحدث ولكن العدوى خلال التغذية على الضحية المصابة تبدو غير شائعة.

الفيروسات Viruses: يبدو ان الفيروسات هى الممرضات الاكثر اشتراكا مع كلا اشباه الطفيليات والمفترسات وعوائلها وضحاياها. توجد العديد من انواع الفيروسات فى الحشرات التى تتباين فى تأثيراتها المرضية من الضارة الى النافعة. معظم البيانات المتاحة تتعلق بفيروسات الحشرات والكائنات النافعة والافات التى تتضمن الفيروسات العصوية baculoviruses. الفيروسات العصوية تشمل مجموعة من الفيروسات التكافلية Symbiotic التى تحدث فى بعض أشباه الطفيليات من رتبة غشائية الاجنحة فى بعض انسجة عوائلها الحشرية. هذه تعرف بفيروسات البولى هيدرا وهى عائلة الفيروسات والتى فيها جينومات الحامض النووى "دنا"عديدة الانتشار. هذه الفيروسات متعددة الدنا polydnaviruses تتضاعف فى الخلايا الطلائية الكاسية بشبيه الطفيل وتنفرد فى لومنيا الجهاز التناسلى والتى منها تحقن فى العوائل على طول بقية اشباه الطفيليات. فى احد المرات فى العائل تم التعبير عن البولى هيدروزيس فى نسيج العائل. لقد اتضح ان فيروسات الدنا المتعددة تلعب دورا هاما فى العلاقة بين شبيه الطفيل والعائل ولا يبدو انها تسبب اى ضرر لاشباه الطفيليات التى تعولها وهذا بينما تؤثر على عائل شبيه الطفيل الا انها لا تتضاعف فى انسجة العائل. لم يثبت ان الفيروسات متعددة الدنا لها

اية تأثيرات او قدرات فى المكافحة الحيوية. هذا ولو انه توجد بعض الفيروسات الاخرى توجد فى الجهاز التناسلى لاشباه الطفيليات تقوم بالتضاعف فى عائل شبيه الطفيل وقد يكون لها دور مؤثر فى المكافحة.

لقد وجدت جسيمات مماثلة للفيروس العصوى الخيطى غير المسدود (Cm Fv) فى خلايا اناث شبيه الطفيل الكأسية وتتضاعف فى خلايا البشرة وخلايا القصبة الهوائية للعديد من يرقات حرشفية الاجنحة المتطفل عليها بواسطة كوتسيا مارجينيفنتريس. لم تميز تأثيرات خاصة للفيروس Cm FV فى العائل حيث انها تصاب بالفيروس عديد الدنا. لم يثبت اى تأثير مرضى كما ان دور هذا الفيروس فى العائل غير معروف.

هناك عدد من الفيروسات العصوية الممرضة والتى يمكن اعتبارها كى تستخدم فى المكافحة الحيوية ولقد اقترح الباحثون ان هذه الفيروسات يمكن ان تنقل بواسطة اشباه الطفيليات. هذا ولو انه ليست كل العوائل المصابة بالفيروس تكون مقبولة كمواقع للتبويض. لقد اشار Kelsey (١٩٦٢) ان شبيه الطفيل C.glomerata لا يضع بيض فى يرقات ابى دقيق الكرنب المعدية بالفيروس ونفس الشئ مع C.melanoscelus التى تكون مهاجمتها اقل للحشرة ليمتناريا ديسبار المعدية بالفيروس. لذلك فان مصدر العدوى الفيروسية لاشباه الطفيليات البالغة قد تكون محدودة على اشباه القلويات التى تهاجم العوائل فى الاطوار المبكرة من العدوى او التى تتطور داخل العوائل المرضية. هذا بينما نسل اشباه الطفيليات التى تضع البيض فى العوائل فى الاطوار المبكرة من العدوى بالفيروس لا يحتمل ان تستمر فى البقاء. تطور شبيه الطفيل الا يكونوميدى C.sonorensis نادرا ما يتقدم فيما وراء العمر الاول عندما يتم عدوى عائلة دودة اللوز الامريكية بفيروس البولى هيدروزيس النووى (NPV). فى معظم الحالات يكون موت شبيه الطفيل راجعا وببساطة الى موت العائل المصاب بالفيروس فى مرحلة قبل النضج. على سبيل المثال فان C.sonorensis وH.exiguae وC.marginiventsis تموت مع وفاة عائلها اذا كان معديا بالفيروس او فى وقت يقترب من تبويض شبيه الطفيل. شبيه الطفيل بيض- يرقات Chelonus insularis يموت كذلك فى العوائل المعدية بالفيروس NPV حتى لو اصبح العائل معديا بعد بضع أيام من التطفل. عندما يسبق التطفل التعرض لفيروسNPV بوقت ٤٨ساعة فان العديد من اشباه الطفيليات يبدو انها تداوم المعيشة دون ان تتأثر ولو ان البولى هيدرا تتراكم فى المعى الاوسط لليرقات خلال تطورها. هذه البولى هيدرا تحجب مادة الميكونيوم خلال التعذروالتى تحدث داخل شرانق اشباه الطفيليات. وجود البولى هيدرا فى الميكونيوم قد يكون مسئولا عن مقدرة

الاناث لنقل الفيروس NPV في بعض الاحيان ولو ان اناث اشباه الطفيليات لا يبدو انها تعدى ولا تلامس العائل المصاب. من الممكن ان الاناث تهرب من الشرنقة ومن ثم تصبح الة وضع البيض لها ملوثة بالفيروس من مادة الميكونيوم.

فيروس الدنا مزدوج التخطيط المظروف المكتشف حديثا "اسكوفيروس Ascovirus" يبدو انه ينتقل ميكانيكيا بواسطة اشباه الطفيليات مثل كوتسيا مارجينيفينزيس من يرقات دودة ورق القطن المصابة الى السليمة. على غرار الفيروس NPV فانه عندما تكون العوائل مصابة بالاسكوفيروس بعد ٤-٥ أيام من التطفل فان بعض اشباه الطفيليات تتقص. هذا ولو ان موت اشباه الطفيليات التى تفشل فى الفقس لا يبدو انها ترجع وببساطة الى قتل الفيروس للعائل قبل ان تستكمل اشباه الطفيليات تطورها. الفيروس قد ينافس على المواد الغذائية حيث ان يرقات العائل المعدية بالفيروس تعيش اطول من غير المعدية بالفيروس كما ان يرقات شبية الطفيل التى تفقس من العوائل المعدية بالفيروس تكون صغيرة. فى بعض الحالات فان اشباه الطفيليات تتطور اسرع فى العوائل المعرضة للفيروس وقد يكون هذا راجعا الى ان الفيروس يضعف من المقدرة الدفاعية للعوائل او يجعل المواد المغذية اكثر اتاحة. لقد وجد الباحثان Hotchkin and akaya (١٩٨٣) أن H.exiguae ذات فترة تطور قصيرة فى العوائل الاخرى المصابة بالفيروس مثل C.sonorensis وكوتسيا مارجينيفيزيس. لقد ادت هذه النتائج الى القول بان الفيروس قد يتنافس على المواد المغذية الضرورية.

هذا ولو ان التنافس على المواد الغذائية المحدودة للعائل او العدوى لا تفسر دائما تأثيرات العوائل المعدية بالفيروس على تطور اشباه الطفيليات. الابانتيليس ميليتياريس تموت فى العوائل المصابة بالفيروس قبل العائل. ما اذا كان موت اشباه الطفيليات هذه بواسطة العدوى ما زال غير واضحا. بسبب ان شبيه الطفيل المتطور يموت داخل وقبل العائل لا يمكن من القول بان الفيروس يحدث قتل مباشر لشبية الطفيل. لقد وجد الباحثان Kaya and Tanada (١٩٨٣) وجد ان سلالة الفيروس البولى هيدروزيس النووى من السلالة ذات فرط التغذية Hypertrophy (HNPV) تنتج كذلك عامل سام فى هيموليمف العائل الخاص بها. العوائل التى فيها هيموليمف سام بسبب الاصابة الفيروسية تسبب فى تحوصل G.militaris ثم يموت شبيه الطفيل قبل العائل.

التطفل قد يؤثر كذلك على حساسية العائل للعدوى بالفيروسات. لقد اشار الباحث Tower (١٩١٦) ان يرقات الدودة القارضة M.unipuncta المتطفل عليها بواسطة شبيه الطفيل G.militaris تستهلك فقط نصف الغذاء الذى تستهلكه اليرقات غير

المتطفل عليها بينما يرقات ابى دقيق الكرنب المستوردة المتطفل عليها بواسطة C.glomerata تستهلك طعام اكثر من اليرقات غير المتطفل عليها. تأثيرات التطفل هذا على تغذية العائل من الامور الشائعة وهذا التباين فى استهلاك الطعام قد يلعب دورا فى التعرض وحساسية العائل للامراض الفيروسية. تباين تعرض العائل لعدوى الفيروس التى تتسبب عن التطفل نادرا ما درست. لقد وجد ان اليرقات غير المتطفل عليها ذات حساسية مضاعفة للفيروس NPV عن تلك المتطفل عليها بواسطة H.exiguae والتى قد ترجع الى قلة التغذية على العائل المتطفل عليه وكذلك يتعرض لعدوى اقل بالفيروس. على العكس وجدت علاقة وارتباط موجب بينNPV وشبيه الطفيل من غشائية الاجنحة C.melanoscelus. لقد اتضح كذلك ان يرقات الفراشة الغجرية اكثر حساسية للفيروس NPV اذا كان متطفل عليها ولكن التأثير لا يعزى الى زيادة التغذية لان العوائل المتطفل عليها تتغذى اقل. لقد وجد تداخل موجب بين ثنائية الاجنحة P.selvestris واعراض تطور الفيروسNPV فى العوائل. من المحتمل ان النفاذية الى معى العائل بواسطة اليرقات المتطفل عليها تساعد فى العدوى بالفيروس كما اقترح مع العدوى البكتيرية.

اظهرت الدراسة على شبيه الطفيل من ثنائية الاجنحة C.concinnata أنها تنبثق باعداد كبيرة من العوائل المصابة بالفيروس عن المقارنة. لقد وجد ان هذا يرجع الى خفض تبويض هذا الطفيل فى العوائل المصابة بالفيروس والاقل نشاطا. هذه العوائل تنتج كذلك فورياروداليس سليمة وصحية. عندما يسمح لاناث الفورياروداليس بوضع البيض فى الاطوار المبكرة فى العوائل المصابة حديثا او تلك التى اصيبت بعد وضع البيض مباشرة فان شبيه الطفيل المتطور يتعذر مبكرا عما هو متوقع. اما قبل او بعد موت العائل مباشرة. يبدو ان ثنائية الاجنحة المتطفلة تتكيف افضل نحو الاستجابة لموت العائل قبل النضج.

← التداخل المؤثر بين الكائنات النافعة والممرضات الحشرية:

توجد العديد من الكائنات غير المستهدفة (NTO's) التى تتعرض لممرضات الحشرات متى وعندما تستخدم. هذا بينما العديد من هذه الممرضات ذات درجة من التخصصية تمكن من خفض تأثيراتها على العديد من الكائنات غير المستهدفة غير المرتبط بها. من اعظم الاهتمامات تلك الخاصة بالانواع غير الافات القريبة تقسيميا والممرضات ذات المدى العوائلى العريض. ثانيا فان نظام استخدام الممرضات يؤثر

على الانواع غير المستهدفة التى تتعرض. قد يستخدم الممرض فى وقت او فى منطقة تخفض من كفاءة على NTO's الحساسة. ثالثا فان معظم الممرضات تكون متخصصة بالنظر الى الاطوار التى تقوم بعدواها ومن ثم تقلل من امكانية ان NTO's سوف توجه وتتعرض فى الطور أوالمرحلة الحساسة من دورة حياتها. ولو ان العديد من الممرضات تميل الى الوجود والتعامل الغير متوافق مع المفترسات وأشباه الطفيليات التى تستخدم نفس انواع العائل. هذا التضارب قد يكون ضار او نافع. لقد قام الباحث Tamachiro بتقسيم التداخل بين الممرض/الطفيل (شبيه الطفيل)- العائل فى اربعة تأثيرات: تأثيرات ضارة مباشرة direct deleterious وغير مباشرة ونافعة beneficial ولا تأثير. هذا بينما التأثيرات تعتمد بشكل كبير على الموقف والرؤية المستقبلية. من نظرة عريضة فان التأثيرات قد تتراوح من عدم وجود تداخل من خلال النفع المباشر او غير المباشر للتوافق مع او التداخلات المحايدة او مع التداخلات الضارة المباشرة او غير المباشرة.

من منظور الممرضات فان التداخلات تميل لان تكون نافعة. هذه التداخلات لا تؤدى فقط الى زيادة المدى العوائلى ولكنها قد تزيد من حساسية العائل وانتشار الممرض ونشره ونجاحه. من منظور العائل فان التداخلات بوجه عام تكون سالبة. يموت العائل اما من المرض او فى تتابع مع شبيه الطفيل او المفترس. تأثير التداخل من منظور المفترسات وأشباه الطفيليات من اكثر الامور المعقدة. المجموعة الاخرى من الكائنات النافعة وهى الملقحات قد تتأثر من جراء استخدام الممرضات فى المكافحة الحيوية للافات. فى هذا المقام سوف نتناول ما اذا كانت الملقحات تلامس الممرض وما اذا كانت الممرضات تحدث عدوى مباشرة للملقح وفى حالة الانواع الاجتماعية ما اذا ان الممرض يحمل مرة اخرى الى المستعمرة كى يعدى الاطوار غير الكاملة.

(أ) **الملقحات Polinators**: العديد من انواع الحشرات تعمل كملقحات وهى تشمل الفراشات وثنائية الاجنحة والخنافس وغشائية الاجنحة. هذا بينما يوجد القليل جدا من المعلومات عنها فيما عدا نحل العسل Apis mellifera. هذا النقص فى المعلوماتية جعل من الصعوبة التنبؤ بتأثير استخدام الممرضات على هذه الكائنات. الملقحات فى العادة تكون حشرات بالغة بينما العديد من الممرضات تكون اكثر عدوى للاطوار غير الكاملة والتى بسبب تخصصية العديد من الممرضات قد تقلل من خطر

التأثيرات المباشرة. هذه المخاطر تقل أكثر اذا لم يستخدم الممرض على النباتات المزهره. هذا بينما الملقحات تكون فى خطر اذا لامست النباتات الملوثة.

نحل العسل واحد من الحشرات القليلة غير المستهدفة وهى الملقح الوحيد الذى درس بعناية خاصة فى القاء الضوء عن تأثره بالممرضات. لقد وجد بعض الباحثين ان نحل العسل البالغ غير حساس للنيماتودا S.feltiae ولكن اليرقات التى تتعرض مباشرة للنيماتودا فى المعمل كانت حساسة. عندما تم رش هذه النيماتودا مباشرة على الواح الحضنة لم تتأثر الحضنة بشكل خطير وحدث موت للنحل البالغ فقط خلال الايام الثلاثة الاولى. بعد تغذية النيماتودا فى محلول سكرى الى نحل العسل البرى اصبحت الشغالات فى الخلايا مصابة بينما الحضنة لم تصاب. لم تصاب الحضنة بسبب ارتفاع الحرارة فى مكان تربية الحضنة فى الخلية.

لقد تم تغذية عدد من فيروسات البولى هيدروزيس المحبب الى نحل العسل فى محلول سكروز. لم تلاحظ اى تأثيرات على النحل او الحضنة فى الخلية. الممرضات البكتيرية بداية بالباسيلليس ثورينجينسيز درست بكثافة. من بين اختبارات العديد من تحت الانواع والسلالات وخلائط مختلف تجهيزات bt أظهرت تلك التى فيها بيتا- اكسوتوكسين فاعلية ضد نحل العسل فى الاختبارات المعملية. لم يشير اىٍ من الباحثين الى حدوث تأثيرت معاكسة للباسيلليس على نحل العسل عند الرش على المجموع الخضرى. لقد اشارCantwell ومعاونوه (١٩٧٢) ان تركيز ٢٢رطل/أكر مطلوب على الاقل لاحداث تأثير. لقد استخدمت bt لمكافحة دودة الشمع فى خلايا النحل.

لقد لاقت الامراض البروتوزوية قليل من الاهتمام ولو ان Nosema apis سببت مرض خطير للنحل. لقد اشارCantwell (١٩٧٢) الى الامراض التى ترجع الى النوزيما منها N.apis وكذلك المرض الذى يتسبب عن النوع Thelohania الذى يهاجم البعوض والذى اختبر ضد نحل العسل. باستثناء N.apis لم تتطور ممرضات خطيرة. لم تظهر اى من المبيدات الحشرية الحيوية تأثيرات خطيرة على نحل العسل. بينما يبدو ان نحل العسل مقاوم للعديد من الممرضات الحشرية فانه لا يعرف الا القليل عن الانواع الاخرى من الملقحات. قبل استخدام ممرضات الحشرات فى مكافحة الافات يجب تقييم الانواع الاخرى من الملقحات التى تتعرض لها.

(ب) **المفترسات Predators**: المفترسات سواء كانت ماصة او قارضة يبدو عادة انها مقاومة للعدوى. لقد اشار سلامة وآخرون (١٩٨٢) ان ابى العيد ذى الاحدى عشر نقطة تتناول كمية اقل عندما تتغذى على العوائل المعرضة للباسيلليس ثورينجينسيز كما ان خفض المفترسات فى الحقل ترجع الى حفض تعداد الضحايا عنه مع اية تأثيرات مباشرة للممرضات. الضحية المصابة بالنيماتودا لا يبدو انها تغزو المفترسات المتغذية ولو ان بعض المفترسات المعرضة فى التربة الرطبة للاطوار المعدية من النيماتودا قد تصبح معدية. هذا التعرض قد يكون فى الحد الادنى. لا يبدو ان المفترسات حساسة للعوائل المعدية بالفيروسات. جزء من هذه المقاومة قد يرجع الى نظام هضم اكثر حامضية فى المفترسات والتى تكون الفيروسات مقاومه لها ومن ثم لا تكون الفيريونات حرة. لا يعرف الا القليل عن الفطريات ولا يميل الكثيرين للقول بان المفترسات حساسة للاطوار الخضرية النامية فى الضحية المصابة. على نفس المنوال فان التأثير الذى يحدث من جراء التداخل الخاص بالبروتوزا والضحية على المفترسات ناقصة. لقد تم وصف الميكروسبوريديا فى العديد من الحشرات المفترسة ولكن ما اذا كانت هذه الامراض ذات علاقة مع الضحية لم توصف او تدرس بعد. من المؤكد ان الفيروس والبكتريا وجدت فى اخراجات المفترسات كما ان الفيروسات تقاوم التناول والهضم وتنفرد مع الفيريونات اما البكتريا تعتبر غازيات فقيرة.

(ج) **أشباه الطفيليات Parasitoids:**

١- **اشباه القلويات من ثنائية الاجنحة Dipterous**: غالبية حشرات ثنائية الاجنحة المتطفلة سواء تلك التى تضع عدد كبير من البيض فان بعضها يستهلك بواسطة العائل او تلك التى تضع عدد قليل من البيض على او بالقرب من العائل فانها تفقس بعد وضع البيض مباشرة او تضع يرقات Larvideposit. فى كل من هذه المواقف فان الطور اليرقى هو الذى يخترق جدار معدة العائل كى يتغذى. العديد من يرقات شبيه الطفيل المتطورة يجب ان تحصل على مصدر للهواء. ان وصولها الى نظام القصبة الهوائية فى العائل او تخترق جداره قد تقدم طرق اضافية لدخول الممرض ولو ان هذا مجرد حدس. على وجه الخصوص فانه فى الاطوار المتأخرة من تطورها فان ثنائية الاجنحة هذه تميل الى الترمم Saprophytic وبعضها قد يخرج من العوائل التى تموت قبل ان تنضج.

مع ان العائل فى المرحلة المتقدمة من المرض قد يتحقق الا ان بعض الاناث البالغة من اشباه الطفيليات من ثنائية الاجنحة تتجنب التبويض. من المعروف ان هذه البالغات تتغذى على العوائل الميتة والجافة او تكتسب العدوى من خلال هذين الطريقين. هذه البالغات المصابة قد تنشر الممرضات من خلال اجزاء فمها الملوثة والرسغ وكمثال من خلال المجموع الخضرى الملوث.

٢ـ **أشباه الطفيليات من غشائية الاجنحة Hymenopterous**: لقد ناقش الباحث Starr (١٩٨٥) دور الواحزات Stingers فى نشوء الاجتماعيات Sociality بين غشائية الاجنحة. يجب الا نفرط فى النظر الا ان نشوء ميكانيكية الوخز قد تؤدى ايضا الى تشعيع مسكن التطفل فى غشائية الاجنحة والمقدرة على النقل Vectorial capacity. هذا الاتجاه الاخير يمثل اتجاه جيد للفيروسات الممرضة للحشرات والبكتريا والبروتوزا ولو انه لم يتأكد ما اذا كانت الفطريات او النيماتودا تنتشر او تنتقل حقيقة بواسطة اشباه انطفيليات. ليس من المهم فى هذا المقام ما اذا كان نقل الفيروسات (فيما عدا الفيروسات عديدة الدنا التكافلية Symbiotic) وغيرها من مسببات امراض الحشرات يسبب اضرار على اشباه الطفيليات من غشائية الاجنحة المنافسة على مصادر الغذاء التى يمثلها العوائل قد تؤثر كذلك على التأثيرات التى تحدثها الممرضات عندما تحدث فى نفس العائل على غرار شبيه الطفيل وقد تهاجم اشباه الطفيليات العوائل التى فيها كميات مناسبة من المواد الغذائية. بالاضافة الى ذلك فان الممرضات البكتيرية والبروتوزية تؤثر على النسب الجينية فى العائل وفى بعض الاحيان تحول جنس الى اخر. مثال ذلك الكائنات الدقيقة المشابهه للبكتريا تحول الذكور الى اناث فى احد السلالات isopod ومن المعروف ان اثنان من الميكروسبوريديوم تقوم بتحويل الذكور فى amphipod الى اناث نشطة وظيفيا وتكون قادرة على نشر هذه الوسائل المرضية اكثر. فى حالات اخرى تتغير النسب الجنسية من خلال موت متفاوت للجنس مع توقف انتاج الذكور. لقد اشارHuger واخرون (١٩٨٥) الى العدوى الجهازية "المزمنة فىN.Vitripennis البالغة مع صفة وخاصية قتل الاشياء" اكثر من ٨٠%من بيض الذكور فى الاناث المصابة يفشل فى الفقس ويتم نقل الوسيلة المرضية عن طريق الام. مرة اخرى نقول ان بعض الممرضات الحشرية تخفض من نمو العائل وتقليل الحجم وتوجيه النسبة الجنسية فى اتجاه الذكور.

REFERENCES

Abas. M. S. T. and Boucias, D. G., Interaction between nuclear polyhedrosis virus-infeated Anticarsia gemmatalis (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and predator Podisus maculiventris (Say) (Hemiptera: Pentatomidae). Environ. Entomol., 13, 599, 1984 .

Bell. J., King. E., and Hamalle. R. H., Interactions between bollworms and parasite and the bacterium Serratia marcescens. Ann. Entomol. Soc. Am.,67. 712. 1974.

Cantwell. G. E., Lehnert, T., and Fowler, J., are biological insecticides harmful to the honey bee Am. Bee J., p. 255, 1972.

El- Sufty, R. and Fuhrer, E., Parasitare Veranderungen der Wirtskuitikula bei Pieris brassicae und Cydia Pomonella durch entomophage Endoparasiten, Entomol. Exp. Appl., 30, 134, 1981.

Fuhrer, E. and Willers, D., The anal secretion of the endoparasitic larva Pimpla turionellae: sites of production and effects J. Insect Physiol., 32, 361, 1986.

Hamel, D. R., The effects of Bacillus thuringiensis on parasitoids of the western spruce budworm, Choristoneura occidentalis (Lapidoptera: Tortricidae), and the spruce coneworm, Dioryctria reniculloides (Lepidoptera: Pyralidae), in Montana, Can. Entomol., 109, 1409, 1977.

King, K. M. and Atkinson, N. J., the biological control factors of the immature stages of Euara ochrogaster Gn. In Saskatchewan, Ann. Entomol. Soc. Am., 21, 167, 1928.

Pailot, A., Le probleme de l' equilibre natural chez les insectes phytophages, Rev. Gen. Sci. Bull. Sac. Philomath. 36, 206, 1925.

Stoltz, D. B., Guzo, D., and Cook, D., Studies on polydna- virus transmission, Virology, 155, 120, 1986.

Tower, D. G., Comparative study of amount of food eaten by parasitized and non-parasitized larvae of Cirphis unipuncta, J. Ahric. Res., 6, 455, 1916.

Voukassovitch, p.. Contribution a l'etude d'un champignon entomophyte Spicaria farinosa (Fries) var. verticilloides Fron. Ann. Inst. Natl. Rech Agron.. C.. 2. 73. 1925.

Walter. G. N., Differences in host relationships between male and femal heteronomous parasitoids: areview of host location, oviposition and pre-imaginal physiology and morphology, J. Entomol. Soc. S. Afr., 46, 261, 1983.

young, O. P. and Hamm, J. J., The compatibility of two fall armyworm pathogens with a predaceous beetle, Calosoma sayi (Colepatra: Carabidae), J. Entomol. Sci., 20, 212, 1985.

الفصل الثاني

تأثير المبيدات الحشرية الميكروبية على بيئة المياه العذبة مع التناول الخاص لبرنامج مكافحة داء المذنبات الملتحية الذي تضطلع به منظمة الصحة العالمية وبرنامج الأمم المتحدة للتنمية والبنك الدولي

من مقالة للباحثان C.Dejoux and J.M.Elouard اللذان قدما بالقول بأن المياه على سطح الكرة الأرضية سواء كانت منسابة (lotic) او الساكنة (lenitic) تعتبر من مواقع جمع تركيز النواتج الثانوية المتعددة من جراء الأنشطة الآدمية. الاستخدام المكثف للأسمدة فى البحيرات او البرك متبوعا بالانجراف يؤدى الى غنى خطير وضار بالعناصر الغذائية eutrophication. على نفس النسق ما هو حادث من تلوث او اتساخ الانهار بالمخلفات الصناعية. من الامور الاكثر اغراء والشائعة كثيرا التراكم البطئ فى المياه القارية للمنتجات او المركبات الناتجة منها حيث تستخدم بعيدا بعشرات وربما مئات الكيلومترات ثم تصعد الى الجو قبل ان تسقط على سطح الارض بواسطة الامطار الحامضية، انجراف مساحيق المبيدات الحشرية بعد التطبيق الجوى.....الخ.

مرة اخرى فان مكافحة ناقلات الامراض ذات اطوار التطور المائية قد تتطلب بالضرورة استخدام المبيدات الحشرية مباشرة فى المياه حيث لا تكون اختيارية هذه المبيدات على الأنواع المستهدفة مطلقة. فى جميع الحالات يكون من الضروري والحتمى تقليل مستوى التلوث والاتساخ الذى يحدث بكثافة فى النظم البيئية المائية.

لسنوات عديدة ظل التطبيق العملى للمبيدات الحشرية الميكروبية مقيدا على الزراعة والغابات مع قليل من الاهتمام عن تأثير سميتها على إحياء المياه العذبة. لقد تم اجراء اختبارات معملية على قليل من الأحياء مثل أنواع الدافنيا وكذلك تم تسجيل الجرعات النصفية القاتلة LD5O's لهذه القشريات وإضافتها الى البيانات الاخرى المطلوبة للتعضيد الوثائقي الخاص بتسجيل المنتجات الميكروبية لمكافحة الآفات. مع زيادة الاهتمام بالأضرار الناتجة عن انتقال جزئيات المبيدات تجاه الاحياء المائية وكذلك عن الاضافة المباشرة للمركبات مع خصائص مضادات ناقلات الامراض فى اماكن ايواء اليرقات مما يستدعى الحاجة لفهم افضل عن تأثير المبيد الحشرى على الكائنات والاحياء المائية والغلاف المائى بشكل اوسع.

طبيعة الاختبارات التوكسيكولوجية الخاصة التى يجب ان تقدم مع المبيدات الحشرية الميكروبية فى مسار تقويم الامان تعتمد على الطريقة التى سوف تستخدم فيها هذه الوسائل فى التطبيق العملى. من الواضح كمثال ان معايير التسجيل الخاصة باستخدام الباسيلليس موريتاى ايزاوا وفوجيوشى (بالضرورة تستخدم ضد الذباب المنزلى فى البيئات المحلية) تكون مختلفة عن تلك المطلوبة لانواع الباسيلليس ثورينجينسيز من النوع اسرائيلينسيز دى بارجاك اذا كان من الضرورى استخدامها فى المياه الساكنة او المتدفقة لمكافحة بعوض كيوليسيدى والهاموش سيموليدى على التوالى.

التتابعات تتمثل فى دراسات السمية وهى فى الغالب مقيدة على بعض الاختبارات المعملية التى تجرى على واحد او اثنان من الكائنات المائية (بوجه عام دافنيا ماجنا وجمبوزيا افينيس). فى حالة المبيدات الحشرية التى تستخدم مباشرة فى الماء يجب ان توجه البحوث فى اتجاه مستويات مختلفة من النواحى البيولوجية والايكولوجية مع ضرورة ملاحظة التأثيرات السامة على النظم البيئية.

*** طرق تقييم تأثير المبيدات الحشرية الميكروبية على الكائنات المائية غير المستهدفة (NTO's)**

مفهوم التقييم المعملى لسمية المبيدات الحشرية الجديدة على الكائنات المائية غير المستهدفة NTO's ليس بالامر بالجديد. لقد اصر بعض الخبراء المشتركين فى اللقاء العلمى لمجموعة خبراء هيئة الصحة العالمية WHO على الضرورة المطلقة لهذا التقييم. مثال ذلك ما اوصى به احد الخبراء من ان "..... جميع المنتجات ذات الاصل الطبيعى قادرة على ان تحل محل المبيدات الحشرية الكيميائية سواء كانت حية او ميتة يجب ان تختبر بعمق كى نستبعد اى خطورة من السمية سواء على الانسان و اية كائنات اخرى عن الانواع المستهدفة".

For example, one such meeting recommended that,"....all products of natural origin, able to replace chemical insecticides, living or dead, have to be tested in depth in order to discard any risk of toxicity either to man or to any organisms other than the target species."

حديثا تكررت نفس الفكرة وتعاظمت فى تقدير اخر من هيئة الصحة العالمية WHO "من الاعتبارات الهامة لتقدير منتجات مكافحة الناقلات دراسة مدى الامان

innocuity للمركبات المقترحة على الكائنات والاحياء النافعة غير المستهدفة التى ترافق وتتواجد مع الناقلات وتضع ضغوط تشريعية عليها. هذا حقيقى مع المركبات الكيميائية وكذلك مع المركبات الحيوية. الامان الايكولوجى ecological innocuity يقاس ليس فقط بواسطة الاستجابة الفورية لافراد الكائن المعزولة او مجاميع الكائنات والاحياء المتباينة (مفترسات وكذلك detrivors) التى تعيش فى نفس biotopes كأنواع مستهدفة).

اذا كانت هذه الأساسيات صالحة فان اختبارات السمية لتسجيل المبيد الحشرى الميكروبى سوف تختلف من مركب لاخر مع الأخذ فى الحسبان مجالات الاستخدامات المستقبلية. مع هذا يجب ان يظل فى الاذهان ان المركب الذى يستهدف نوع خاص من الاستخدام فى البداية قد يستخدم لاحقا بسبب المستجدات والظروف الاخرى لاغراض أخرى تختلف عما كان مخطط له فى البداية كما يحدث مع تحوير المستحضر او المصدر. بصرف النظر عن اعتبارات الوقت والتكلفة فأنها تؤدى الى استخدام المركبات التى لم يكن مخطط لها عن قصد كى تستخدم مع الأحياء المائية ومع هذا يجب ان تختبر ضد بعض الكائنات والأحياء المعملية القياسية فقط. المركبات المقرر استخدامها فى مكافحة ناقلات الأمراض المائية يجب ان تتعرض لمجاميع من الاختبارات الخاصة. من الواضح ان المركبات التى تأكد من كفاءتها ضد مجموعة الآفات المستهدفة فقط يجب ان تتعرض لاختبارات الغربلة الكاملة ضد الكائنات والأحياء المائية.

*** التأثيرات الايكولوجية للمبيدات الحشرية الميكروبية الاساسية على كائنات واحياء المياه العذبة:**

أ- باسيلليس ثورينجينسيز Bacillus thuringiensis Berliner

لم تكن موجودة حتى الخمسينات وبعد اربعة حقب زمنية بعد ان تم عزلها من فراشة دقيق البحر المتوسط " ايفستيا كوهنيلا" ووصفها ثم ادخالها فى التطبيق الفعلى كمبيد حيوى. الان اصبحت البكتريا المتجرثمة Sporulating bacterium اكثر شيوعا فى حماية المزروعات ومن خلال تحت النوع israelensis فى مكافحة ناقلات الامراض Vector control. فى البداية استخدمت فى مسحوق اولى وبعد ذلك فى صورة مستحضرات وبعد ذلك تم القبول العام للباسيلليس ثورينجينسيز كوسيلة مكافحة آمنة بيئيا. بسبب الفاعلية ضد يرقات البعوض "كيوليسيدى" والهاموش "سيميوليدى" تم

استخدام تحت النوع اسرائيلينسيز مباشرة فى المصادر المائية سواء كانت ساكنة او متحركة. تحت هذه الظروف تتطلب العديد من دراسات السمية بداية فى المعمل وبعد ذلك فى الحقل للوقوف على تأثيراتها على النظم البيئية للماء العذب. فيما يلى مختصر للحصر العام للتجارب وثيقة الصلة بالموضوع على المستويات المختلفة.

١- الاختبارات المعملية Laboratory tests

١-١ تأثير العوامل اللاحيوية Abiotic factors

من الاهمية بمكان فهم ان بعض العوامل البيئية قادرة على التأثير على كفاءة هذه الوسيلة الحيوية ضد الناقلات المستهدفة كما انها قد تلعب دورا مهما على بعض الكائنات غير المستهدفة NTO's. مثال ذلك ان تأثير الحرارة على الباسيلليس تحت النوع اسرائيلينسيز درست باستفاضة. لقد خلص الجميع ان هذه الوسيلة يقل نشاطها بسرعة عندما تتناقص درجة حرارة الماء. هذه النتيجة الخاصة ذات مردود سالب على البيئة حيث ان المناطق الاستوائية تتعرض أساسا لاستخدامات ثقيلة لمكافحة البعوض والذباب الاسود. لقد ذكر البعض ان تخزين اكثر المستحضرات الشائعة الاستخدام (فيكتوباك، باكتيموس، تكنار) تحت ظروف الحقل لا تغير من كفاءتها. التغيرات فى نشاط ايون الايدروجين على الاقل بين رقم الحموضة ٦،١٠ لا تؤثر على نشاط الباسيلليس ثورينجينسيز. لا توجد معلومات متاحة عن امكانية التأثيرات المعاكسة للتوصيل الكهربى العالى او الاملاح المذابة ولو ان كفاءة الباسيلليس تحت النوع اسرائيلينسيز ضد يرقات بعوض المياه السالحة أظهرت ان محتوى ملح البحر ليس خطيرا بوجه خاص. هذا بينما المحتوى العالى من الحديدوز يبدو انه يبطل التأثير القاتل على اليرقات من تحت النوع الاخير ضد الايبدس ديترينس. لقد لوحظت تتابعات مشابهه فى حالة الكلورين والتى يبدو انها تحطم الدلتا- اندوتوكسين.

المحتوى العالى من المادة المعلقة فى المياه الطبيعية تمسك بحيث تضاد مدخلات مكافحة يرقات البعوض حيث تؤدى الى تكوين مخلبيات من مستحضر الباسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع اسرائيلينسيز مع الجسيمات العضوية وهذه التجمعات agglomeration سرعان ما تترسب ومن ثم تتوقف اتاحة المركب ليرقات البعوض واسعة الانتشار. هذه الظاهرة يجب ان تؤخذ

فى الاعتبار كمعيار سالب للكائنات غير المستهدفة الساكنة NTO's وهذه تكون أكثر تعرضا لجراثيم المركبات الميكروبية عما لو وجدت فى المعلق. التعرض المكثف لضوء الشمس/الاشعة فوق البنفسجية تؤدى الى خفض سريع فى المحتوى النشط والحى من الجراثيم ولكنها لا تنقص من الفاعلية على اليرقات بواسطة الباسيلليس تحت النوع اسرائيلينسيز. لذلك فان فعل الاشعة فوق البنفسجية UV لا يمكن ان تؤخذ فى الاعتبار كعامل أساسى فى خفض السمية على الكائنات الدقيقة التى تتغذى على أوراق الترشيح.

١-٢ السمية فى التقييم الحيوى Toxicity in bioassays

العديد من الدراسات المعملية أوضحت عدم حدوث تأثيرات معاكسة للباسيللس اسرائيلينسيز على الكائنات غير المستهدفة (colbo — ١٩٨٠Undeen، ١٩٨١Gallagher، ١٩٨٠Dunn، Garcia ومعاونوه ١٩٨٠، ١٩٧٠Mostri، .... وغيرهم) الذين لاحظوا ان الديكسيدى Dixidae كانت حساسة للباسيلليس كما فى كيوليسيدى ولم تظهر أية تأثيرات ضارة على يرقات الهاموش "كيرونوميد" أقل ٧١٠ خلايا لكل ملليلتر. لقد أشار Dejour واخرون (١٩٨٥) حدوث تأثيرات معاكسة لأنواع الهيدرا فقط عندما تعرضت لمبيد تكنار بمعدلات ٢٥، ١٠٠ جزء فى المليون بينما أشار chnetter وأخرون (١٩٨١) عندما استخدم مزرعة من الباسيلليس اسرائيلينسيز تم تسجيل ١٠٠%موت فى نوعان من الهاموش ونوعان من Chaoboridae و Ceratogogonidae بجرعات تتراوح من ١,٦ الى١٦٠ مللجم/لتر بينما حدث أقل ضرر على يرقات Tipulidae.

على مستوى العالم على امتداد العشرين سنة الماضية أجريت تجارب عديدة على سمية الباسيلليس ثورينجينسيز. للاسف فان هذه التجارب لم ترقى لمستوى المقارنة العلمى. فى بعض الحالات لم تكن هذه التجارب بالدقة المطلوبة. مع هذا فان النتائج أوضحت بوجه عام ما أدى الى الاقتراح بأن ادخال الباسيلليس اسرائيلينسيز فى الماء تؤثر فقط على عدد قليل من الانواع. لقد درس الانتشار العريض للفقاريات فى هذه الظروف. لقد قدم بعض الباحثين الدليل الاولى عن تعرض وقابلية الانواع تحت قسم نيماتوسيدا للمرضات الحشرية للبعوض/الهاموش. لقد قام الباحث Burges (١٩٧٠-

١٩٨٠) بتلخيص نتائج التجارب الحقلية والمعملية. لقد أدت هذه النتائج الى الربط بين غياب السمية مع ظروف الاختبارات المعروفة خاصة المستحضرات او التركيزات الخاصة. لقد اقترح كذلك ان الاطوار المائية لحشرات ثنائية الاجنحة بداية بالكيوليسيدى والسيموليدى وأقاربهم (ديكسيدى، شاوبوريدى) وبعض الكيرونوميدى تمثل العائلات المستهدفة والكائنات غير المستهدفة الاكثر قابلية وعرضة لهجوم بكتريا باسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع اسرائيلينسيز.

٢- التجارب الحقلية Field trials

٢-١. الدراسات قصيرة المدى short- term studies

الدراسات والبحوث عن التأثير سريع الزوال ephemeral effects لبكتريا الباسيلليس ثورينجينسيز من تحت النوع اسرائيلينسيز على الكائنات غير المستهدفة NTO's كانت كثيرة وفاقت ما أجرى على المدى الطويل. لقد تم تغطية هذه التجارب فى اصدار الصحة العالمية (١٩٨٢) بالتفصيل وقد خلص التقدير الى حدوث تأثيرات معاكسة اقل من حد الخطر على النظم البيئية للمياه العذبة بالرغم من ان نتائج هذه الدراسات تحققت من خلال طرق لم تصمم جيدا كى تتواكب مع الغرض المنشود. بالطبع وفى حالة التأثير الفاجع الكبيرCatastrophic والذى يظهر فيه الموت بشكل فورى فى الاحياء والكائنات المائية يعتبر ذلك دليل ذاتى مؤكد عن التأثير.

عندما يكون التأثير أقل حدة فان الدراسات الكمية والمقارنة فقط قبل وبعد المعاملة هى القادرة على توضيح حدوث اى تأثير ضار. فى هذه الحالة فان الطرق التى تستخدم عموما تتكون من المجاميع او السلاسل التى جمعت من عينات القاعدة Surber و/أو العينات المركزية Core فى الاماكن المناسبة فى الحال وقبل وصول المبيد للأحياء المائية والحصول على سلاسل اخرى من نفس الموقع على فترات منتظمة بعد المعاملة. استخدام الوسائط Substrates الصناعية فى نفس الطريق يمكن أن تعتبر كطريقة مفيدة فى حالة التجارب قصيرة المدى وكذلك من دراسة تباينات الانجراف الداخلى خلال ٢٤ساعة وتغطية فترة مساوية (٢٤، ٤٨ ساعة..... الخ) قبل وبعد استخدام المبيد الحشرى فى حالة معاملة المياه الجارية. هذه الطريقة تقدم دليل مفيد عن

الاستجابة الفورية للنظم البيئية المائية للمبيدات الحشرية سواء كانت ميكروبية او كيميائية. هذه الطريقة استخدمت وما زالت تستخدم بشكل روتينى ومنتظم منذ بداية المشاريع والبرامج التى اضطلعت بها منظمة الصحة العالمية/برنامج الامم المتحدة للتنمية/البنك الدولى/ برنامج مكافحة داء المذنبات الملتحية onchocerciasis (WHO/ocp) في حوض نهر الفولتا. نتائج هذه الدراسات الحقلية من جراء الاستخدام العريض للباسيلليس ثورينجينسيز تحت السلالة اسرائيلينسيز وحتى اليوم أظهرت أقل الاخطار على الاطلاق على أى من الكائنات غير المستهدفة تحت الاختبار. الزيادة للضعف او الثلاثة أمثال فى كثافة أو شدة الانجراف النهارى أو الليلى تم تسجيلها أحيانا. مما يمثل أدنى تأثير بيئى معاكس بالمقارنة بزيادة الانجراف ٢٠- ٤٠ مرة نهاريا بشكل منتظم فى مناطق التدفق فى تجارب WHO/ OCP بعد استخدام المركبات الكيميائية المختلفة تحت ظروف بيئية معروفة تماما.

من احدى نقاط الضعف فى هذه الطريقة استحالة تحقيق الدقة وتحديد أى جزء من النظام البيئى اشترك فى الانجراف نتيجة لاستخدام المبيد الحشرى (سواء كان كيميائى أو ميكروبى). لاستيضاح هذا التساؤل تم تصميم نظام المزاريب gutter الذى يمكن من تحديد نظام الانجراف قبل وبعد الاستخدام. هذا النظام يسمح بالتحليل العميق لاشتراك كل من الكائنات غير المستهدفة NTO فرادى او فى مجاميع فى زيادة الانجراف drift بما يسمح بتقييم دقيق وفى نهاية كل تجربة يمكن تقييم وتحليل تأثيرات كل وسيلة من وسائل المكافحة على مختلف الكائنات. لقد تم تلخيص مخرجات هذا التقييم وغيره فى اصدار الصحة العالمية (١٩٨٢) والذى خلص الى حدوث موت شديد لحشرات الهاموش "سيميوليدى" مصحوبة بعدم زيادة معنوية فى معدل الانجراف للاحياء غير المستهدفة NTO فيما عدا الكيرونوميدى والارثوكلادينى مع قليل من التأثيرات المعاكسة على مجتمع الحشرات (مفترسات السيميوليدى). الكائنات غير الحشرية الوحيدة التى وجدت حساسة بشكل واضح للباسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع اسرائيلينسيز هى القواقع من عائلة Aneylidae.

لقد تحصل على ملاحظات وثيقة الصلة عن أماكن اخرى بخلاف غرب أفريقيا حيث أشارت التقارير الى عدم حدوث تأثيرات معاكسة من

الباسيلليس الكيرونوميدى ومدى واسع من الكائنات غير المستهدفة بما فيها بعض التقارير من المجارى المائية الجارية الصغيرة فى نيوفونلاند، كندا التى عوملت بالمزارع المحلية وفى نيويورك حيث عوملت بمسحوق روجربيلون-8-153 وساندوز sandoz/WDC وغيرها من البرك كما فى كاماراج وفرنسا التى عوملت بمستحضر فيكتوباك. فى تجارب مستحضر تكنار فى المجارى المائية فى كيوبيك وجد Back وأخرون (١٩٨٥) عدم حدوث زيادة معنوية فى معدل انجراف حشرات عائلات كيرونوميدى، ايفيميروبترا، بليوكوبترا بينما حدث نقص من ٢٦ الى ٣٩% فى يرقات الكيرونوميدى من جنس Eukieffecella و Polyfedilum على التوالى فى الاوساط الصناعية. لقد لوحظ كذلك حدوث مستوى عالى من انجراف حشرات ثنائية الاجنحة/بليفاروكيردى بعد تطبيقان متتابعان من المستحضر البكتيرى. فى تجارب استخدم فيها ساندوزسان٤٠٢/الامن فى قطع تجريبية ٠,٢ هكتار فى كاليفورنيا وجد أنه بينما لم تتأثر العديد من الكائنات غير المستهدفة NTO فان يرقات الكيرونوميدى التى جمعت فور الانتهاء من المعاملة ماتت جميعها بعد يومان فقط. لقد سجلت تأثيرات معاكسة شديدة على الكيرونوميدى من جراء استخدام مسحوق أبوت ABG-6108 فى فلوريدا (على,١٩٨١) حيث تراوحت نسب الموت ٢٣-٦١% (٢ كيلوجرام/هكتار) وحتى ٥٣ الى ٨٨%(١٠ كيلوجرام/هكتار) فى البرك التجريبية ٦x٤ متر ٤٥-٦٠سم عمق على امتداد أربعة أسابيع وفى نفس الفترة تحققت مكافحة من ٢٧ وحتى ٦٥%فى يرقات الهاموش كيرونوميدى التى تعرضت لتركيز٣ كيلوجرام/هكتار فى بركة واحد هكتار.

٢-٢. الدراسات متوسطة المدى Medium- term Studies

الدراسات على هذا المستوى أقل من تلك التى أجريت على المدى القصير والتى استهدفت القاء الضوء عن تأثيرات المبيدات الميكروبية على النظم البيئية المائية وهذا قد يرجع الى التكاليف العالية والحاجة لأفراد مدربون جيدا وذوى خبرات على امتداد فترات طويلة. اذا أخذ فى الاعتبار القيام بملاحظات منتظمة على امتداد شهور عديدة فى دراسة ذات المدى المتوسط تبرز صعوبة تمييز التأثير الفعلى للمركب تحت الاختبار والنشوء الطبيعى للمجاميع الحشرية تحت الملاحظة.

من الامثلة التقليدية الدراسة التى قام بها الباحث Yameogo (١٩٨٠) فى قطاع صغير من المجارى المائية فى وسط ساحل العاج. لقد تم تطبيق اسبوعى للباسيلليس الاسرائيلية (مستحضر ساندوز٢ ٤٠ IW.Dc) على امتداد شهرين. لقد درس نشوء المجاميع المعاملة من اللافقاريات خلال هذه الفترة وقورنت بنفس المجموع فى القسم غير المعامل فى نفس المكان. لقد استخدمت الطرق التقليدية فى التقييم مثل أخذ عينات القاع والمركز والوسائط الصناعية والقياسات الداخلية لشدة الانجراف. لقد خلص الباحث الى حدوث استجابة فورية لهاموش الكيرونوميدى (أورثوكلاديني) بعد المعاملة الاولى (زيادة كبيرة فى الانجراف) ولم يحدث تأثير محسوس مع التطبيقات الاخيرة حيث زادت شدتها على الوسائط الصناعية وعلى الصخور فى التيار الجارى بشكل منتظم. لقد أظهرت حشرات ترايكوبترا/هيدروبتبليدى نفس نظام النشوء. هذا بينما حدث خفض معنوى كبير فى مجاميع حشرات ترايكوبترا/هيدروبسيكيدى وفيلوبوتاميدى فى العدد خلال شهرى الملاحظات.

فحص مجاميع اللافقاريات التى تعيش على الصخور فى المجارى المائية يظهر حدوث زيادة عامة فى كثافة اللافقاريات خلال فترة الملاحظة فى القسم المعامل وغير المعامل من تيار الماء مع كثافة أقل فى القسم المعامل وهذه النتائج لم تتأكد احصائيا. لم تتأثر الكيرونوميدى بشكل كامل من جراء المعاملة وظلت كثيفة فى كلا القسمان. لقد وجدت السيراتوبوجونيدى أكثر كثافة فى القسم المعامل بينما حدث نقص واضح فى كثافة هيدروبسكيدى وتيبيوليدى فى المناطق المعاملة. لقد حدثت نتائج مشابهه فى الاوساط الصناعية واختلفت النتائج بشكل بسيط فى حالة عينات القاع الرملية. لذلك كان الخفض فى أعداد الكيرونوميني والتانيترسيني واضحا وقد يرجع ذلك الى الترسيب العالى للمستحضر الميكروبى على القاع الرملى عما هو الحال على الاحجار والصخور والتى تنظف وتطهر بشكل منتظم بواسطة تيار الماء الجارى.

خلاصة القول أنه يبدو أنه يحدث تحور فى المجاميع بعد شهرين فقط من المعاملات المنتظمة. هذا الاستنتاج مبنى أساسا على نقص كثافة المجاميع التى لم تظهر حساسية على الاطلاق فى الدراسات قصيرة المدى. على العكس فان الكيرونوميدى التى أظهرت حساسية فى التجارب قصيرة المدى لم تتأثر

اطلاقا من خلال المعاملات على المدى المتوسط. فى هذه الحالات الخاصة يوجد احتمال قوى بأن النقص فى أعداد الهيدروبسيكيدى المفترسة كانت نافعة لمجاميع الكيرونوميدى وتعوض أى تأثير محتمل للباسيلليس ثورينجينسيز الاسرائيلية على هذه الحشرات.

٣-٢. الدراسات على المدى الطويل Long- term studies

مع بداية برنامج WHO/ocp عام ١٩٧٤ لمكافحة ناقل أخطر الامراض وهو سميليوم دامنوسوم والذى حقق نجاحا خلال المعاملات الاسبوعية لمستحضر Abate (مبيد فوسفورى عضوى يسمى Temephos) فى مواقع التوالد على امتداد حوض نهر فولتا. الظهور أو التطور العريض لظاهرة المقاومة للتيميفوس والمقاومة المشتركة للمبيد الكيميائى البديل الاول كلوروفوكسيم فى الانواع السيتولوجية من معقد S.damnasum أكدت على ضرورة البحث واستخدام وسائل مكافحة اخرى مناسبة بما فيها الباسيلليس ثورينجينسيز. لقد تناولت دراسات التأثيرات البيئية على المدى الطويل فى برنامج WHO/ocp فى الاساس تأثيرات المبيد الحشرى. لقد كان هناك نصيب كبير للمستحضر الميكروبى خلال الثمانينات وبعدها حدث توسع فى استخدام مستحضر تكنار بتركيز ١,٢ مللجم/لتر/١٠ من خلال التطبيقات الاسبوعية المنتظمة بطائرات الهليوكوبتر أو ثابتة الجناح. الانهار الصغيرة كانت تعامل بكثافة على امتداد العام. بينما الانهار الكبيرة كانت تعامل بالبدائل أو التبادل مع التكنار خلال موسم الجفاف (فترة الصرف أو التفريغ القليل) والمركبات الكيميائية العضوية (تيميفوس والكلورفوكسيم) خلال موسم فيض الماء مع ذروة الانسياب. لسوء الحظ فان تبادل المبيدات الميكروبية مع الكيميائية (الاقل اختيارية) جعلت من المستحيل توصيف التأثيرات المعاكسة على الكائنات غير المستهدفة من جراء استخدام مركب عن وسيلة أخرى.

استخدام الباسيلليس ثورينجينسيز الاسرائيلية فى المجارى المائية حيث معدل التصرف أقل من٥٠- ٧٥م^{3}/ثانية يعكس الحجم الطبيعى لمستحضر التكنار بالمقارنة بالتيميفوس. هذا بينما ان مجتمعات اللافقاريات المعرضة للمبيدات الحشرية تتغير لحد ما بين المواسم الجافة والرطبة مما لا يسمح بتقدير التأثيرات الموسمية للمركب الميكروبى على كائنات غير مستهدفة خاصة وكذلك على تركيب المجتمع المائى. مع هذا أمكن الحصول على نتائج

مثيرة من جراء مقارنة أحياء الانهار بعد المعاملة بالتكنار لسنوات عديدة من خلال الاحياء المعروف وجودها قبل اجراء عمليات المكافحة.

خلاصة القول أنه تأكد ان بكتريا باسيلليس ثورينجينسيز الاسرائيلية من أكثر الوسائل الميكروبية كفاءة وفاعلية ومن ثم استخدمت على النطاق التجارى ضد افات نيماتوسيرا وناقلات الامراض حيث تأكد أمانها على الكائنات غير المستهدفة NTO's وكل النظم البيئية. مع هذا ثار جدل كبير حول ضرورة توحيد قياسية الاختبارات الحقلية والمعملية على مستوى العالم على أساس قوائم كائنات الاختبار العريضة التواجد فى المياه العذبة.

ب- بكتريا باسيلليس سفيريكس Bacillus sphaericus Neide 1904

عندما تؤخذ الكائنات غير المستهدفة فى الاعتبار NTO's يجب أن يؤخذ فى الحسبان كذلك مقدرة الباسيلليس سفيريكس١٥٩٣ على البقاء والتكاثر فى المياه الملوثة. البقاء ومداومة المعيشة قد تستمر فى تسعة شهور تحت بعض الظروف دون أى نقص فى سمية التوكسين. من جهة أخرى فان الباسيلليس سفيريكس حساسة لحد ما للأشعة فوق البنفسجية وقد وجد كذلك أن وجود كميات كبيرة من المواد العالقة فى الماء (خاصة المادة العضوية) تحفز حدوث خفض فى نشاط اليرقات ضد البعوض. هذا العامل قد يعتبر موجبا أو ايجابيا مع كائنات NTO's اذا كانت جسيمات الرواسب العضوية بعد تكوين المخلبيات مع الباسيلليس سفيريكس لن تؤكل بواسطة كائنات الاعماق وفى النهاية لوحظ أن سمية الباسيلليس سفيريكس لم تزيد بشكل معنوى عندما ارتفعت درجة الحرارة على عكس الباسيلليس الاسرائيلية. لقد لاحظ الباحثين أن تقليب أو رج مستحضر الباسيليس سفيريكس كثيرا خلال النقل على سبيل المثال يمكن أن يزيد من تحطم الخلايا الجرثومية. هذا يؤدى الى خفض الكفاءة. على نفس المنوال فان هذه الظاهرة يمكن أن تقلل من أى تأثير سام على الكائنات غير المستهدفة. من الاهمية بمكان أن تأخذ فى الاعتبار كذلك ان الصعوبة تظل باقية فى سبيل قياسية تخمر الجراثيم وإنتاج قطفات ذات كفاءة متساوية تجاه الكائنات المستهدفة. تمشيا مع هذا الوضع يمكن القول باختلاف سمية كل قطفة ناتجة من التخمر.

دراسات السمية على الباسيلليس سفيريكس ليست كثيرة بالمقارنة بما أجرى على الباسيلليس الاسرائيلية ولكن النتائج العامة التى تحصل عليها من التجارب المعملية

والحقلية أدت الى استنتاجات مشابهة مما يوضح عدم ضرر السلالات المختلفة الشائعة الاستخدام فى مكافحة الافات.

لقد تركز الاهتمام على الكائنات غير المستهدفة NTO's فى أماكن معيشة البعوض. مع الأخذ فى الاعتبار النواحى التقسيمية أظهرت الدراسات التى أجريت على القشريات البلانكوتونيه أنه لا الحيوانات مجدافية الارجل copepods ولا cladocerans تأثرت بتركيزات ١٠^٥من الخلايا البكتيرية لكل ملليلتر. لقد كان ذلك هو نفس الوضع فى حالات المجاميع الطبيعية لأنواع المونيا وأنواع السيبرس وغيرها فى برك كاليفورنيا حيث استخدمت سلالات١٩٥٣، ٢٣٦٢. على نفس المنوال لم تحدث أية تأثيرات معاكسة على الحبليات odonata وايفيميروبترا (كاليبشيس) وغير متجانسة الأجنحة Heteroptera (كوريكسيدى، نوتونكيدى) أو غمدية الاجنحة (دايتسيدى، هيدرونيليدى). من بين نصفية الاجنحة لم تلاحظ أية تأثيرات معاكسة على الهاموش كيرونوموس ستيجماتريس. كذلك اتضح أن العديد من أنواع الكيرونوميدى غير حساسة لأنواع الباسيلليس الاسرائيلية كما اتضح أن يرقات الجنس كيوليسويدز تأثر فقط ببكتريا باسيلليس سفيريكس بجرعات أعلى من تلك المطلوبة لقتل البعوض.

فى دراسة حديثة حاول الباحث Sinere وأخرون (١٩٨٧) مكافحة مجاميع الهاموش فى برك المياه الراكدة الضحلة فى كاماراج بفرنسا بسبب أن الفوران فى الحشرات كان يسبب مضايقات كثيرة. لقد تم استخدام السائلBSP2 المحتوى على السلالة 2762من الباسيلليس سفيريكس عند جرعة تتراوح من١- ٩ لتر/هكتار (حوالى٣جزء فى المليون) ولم تظهر المعاملة أية تأثيرات ضارة على أنواع الكيرونوموس سالنيناريس، هالوفيلس، بلاموسس وكذلك بعض الانواع الاخرى من تانيترسانى وتانيوبودينى. لقد أدت هذه النتائج الى الاقتراح بأن الباسيلليس سفيريكس أقل سمية على الهاموش من الباسيلليس الاسرائيلية.

لم تحدث أية سمية على الاسماك مع الجرعات العادية كما لم تلاحظ أية تأثيرات معاكسة على سمك الجامبوزيا أفينيس كما تأكد فى تجربة استخدم فيها المسحوق القابل للبلل استوفر للباسيلليس سفيريكس سلالة ١٥٩٣ وبعد أن ظل السمك فى تلامس مع المحلول المحتوى على١٠^٤، ١٠x٥^٤جرثومة لكل ملليلتر لمدة ٩٦ ساعة. من أكثر التجارب اهتماما تلك التى أجريت بواسطة الصحة العالمية WHO حيث اتضح من التجارب الحقلية أن بكتريا باسيلليس سفيريكس (١٥٩٣، ٢٣٦٢) لم تسبب أية تأثيرات ملحوظة حيث أجريت تجربة معملية كذلك وفيها تم تقديم يرقات

البعوض المعدية بالباسيلليس سفيريكس فقط كمصدر وحيد لغذاء العديد من الاحياء المفترسة. لقد قدمت يرقات الكيوليكس (L4) المعرضة لكمية ١٠٠٠ مللجم (١٠٠ مرة مثل المعدل القاتل لليرقات) لعدة أيام للمفترسات مثل ذباب الدراجون وذبابة الداسيل حيث تم توفير كل متطلبات هذه المفترسات بواسطة اليرقات التى كانت أمعائها مليئة بالجرعة القاتلة للباسيلليس سفيريكس (2362، BSP-1). الافتراس على اليرقات المعاملة لم تحفز حدوث أية تأثيرات معاكسة جادة ولم تغير من معدلات تطور الكائنات المفترسة.

هذه النتائج ذات أهمية أولية خاصة اذا علمنا أن طريقة أو كيفية دخول الباسيلليس سفيريكس فى جسم الحيوانات المائية يكون عن طريق التناول. عدم حدوث أية تأثيرات لهذه التركيزات العالية مع كل الكائنات المختبرة يوضح السمية الاختيارية العالية لهذه المستحضرات البكتيرية.

ج- عدوى الفيروسات العصوية infectivity of Baculoviruses

هذه الفيروسات فعالة فى الاساس ضد الحشرات التى تحدث سقوط للأوراق. فيروسات البولى هيدروسيز النووية (NPV's) من الجنس Baculovirus (Baculoviridae) أصبحت أكثر استخداما منذ تسجيلها حديثا ولو أن فعلها المرضى معروف منذ ما يزيد عن ٣٠ عاما. الاستخدامات عن طريق الرش الجوى أدت الى وصول تجهيزات الفيروسات العصوية الى الانهار والبحيرات أثناء المعاملة فى الغابات ولهذا السبب تم دراسة المرضية التى قد تحدثها على الكائنات المائية. كذلك بالرغم من التخصصية النسبية الا أنها أثبتت تأثيرات قاتلة على العديد من الحشرات (خاصة حرشفية الاجنحة) التى قد تسقط فى الماء وتؤكل بواسطة الاسماك. بعض أنواع حرشفية الاجنحة المستهدفة (مثل عائلة pyralidae) تمثل خلال الطور اليرقى مكون أساسى من أحياء الاعماق فى بعض أماكن المعيشة المائية. الخفض الهام فى الكتلة الحيوية لهذه الكائنات قد يحفز حدث خلل محلى فى السلسلة الغذائية ومن ثم يؤثر بشكل غير مباشر على مجموع الاسماك.

قبل أن نأخذ فى الاعتبار مرضية الفيروسات العضوية على أحياء المياه العذبة يجب أن نأخذ فى الحسبان كما أشار الباحث Groner وأخرون (١٩٨١) الى أن التركيزات العالية (حتى١٠/٢٠، وحدات/هكتار) قد توجد بشكل متكرر فى البيئة دون أن تحدث أية أضرار على المجاميع الطبيعية (الفقاريات واللافقاريات) التى توجد

طبيعيا فى هذه البيئات. عندما تؤخذ السمية فى الاحياء المائية يبدو واضحا أن البحوث مطلوبة الاجراء للكشف عن التأثيرات المعاكسة على الاسماك أكثر منها على اللافقاريات المائية بشكل متكرر يتم اجراء اختبارات مكثفة على الكثير من أنواع اللافقاريات المائية مثل الدافنياماجنا، نوتونكتا أنديولاتا وغيرها من حشرات نصفية الاجنحة وثنائية الاجنحة (كيرونومس). تم تعريض هذه الكائنات لتركيزات عالية ولكنها غامضة من الفيروس NPV للفراشة الغجرية (تقريبا التركيز الذى يحدث عندما يتم رش البركة الضحلة جدا بمعدل ٣,٧٥ x١٠/١٣ PIB لكل هكتار. لم يلاحظ موت مباشر لهذه الكائنات. من الاهمية بمكان أن الدافنيا والنوتونكتا لا يحدث فيها تراكم لفيروس الفراشة الغجرية كما ظهر تجارب التقييم الحيوى.

لقد تحصل على نتائج مشابهة بواسطة Geraci and Hicks (١٩٧٩) على الدافنيا بوليكس التى وجدت فى المياه الملوثة بفيروس ذبابة القش الصنوبر حمراء الرأس والتى لوحظت لمدة ١٤ يوم. لقد تأكدت النتائج بواسطة باحثين أخرين عندما استخدموا تركيزات ٢,٤ x١٠ PIB من نفس الفيروس لكل ملليلتر. فى غياب الموت المباشر لم تلاحظ أية تأثيرات معاكسة على الكفاءة التناسلية كما لم تحدث أية تشوهات على الجسم. لقد اختبرت بعض اللافقاريات الاخرى كذلك كما فى الاطوار الصغيرة من الجمبرى Penaeid. فى هذه الحالة تم اختبار فيروسNPV لنطاط البرسيم "اوتوجرافا كاليفورنيا" حيث تم الحقن او اعطاؤه مع الغذاء. فى حالة الحقن العضلى كان تركيز الفيروسNPV المستخدم حوالى ٤,٧ x١٠ قضيب فيروس لكل حيوان جمبرى. بعد ٣٠ يوم من الملاحظة لم تعزى أية وفيات بسبب العدوى بالفيروس وليس من جراء الحقن أو التناول الفمى للفيروس. الفحص الدقيق للأنسجة الملوثة بحقنات الفيروس لم تؤدى للكشف عن أى بولهيدرا نووية.

لقد كانت السمية على الاسماك محل بحوث ودراسات مكثفة كما أجريت دراسات خاصة عن التأثيرات الفسيولوجية للتلوث المباشر بواسطة الفيروسات العصوية (المعاملة بالانبوب، الحقن، التناول ....الخ).

لقد أظهرت جميع النتائج غياب السمية النسيجية التشريحية فى هذه الكائنات. لقد اختبر ١٢ نوع من الاسماك أساسا السلمونيدى بنفس البروتوكول ونفس الشئ على الضفادع وتحصل على نتائج متطابقة. مزارع خلايا السمك التى تعرضت للفيروسات العضوية (فيروس فراشة توسوك دوجلاس) لمدة ٢٤ ساعة لم تظهر أية تغيرات مرضية كما لم تحدث تغيرات فى معدل النمو.

كل هذه النتائج أشارت الى الاستنتاج العام بأن الفيروسات العضوية غير سامة على اللافقاريات المائية والأسماك ولو أنه لم تجرى دراسات على المدى الطويل. للأسف الشديد لا توجد دراسات على المستوى العالمى للنظام البيئى وما فيه من تحورات مع وجود الفيروسات.

د- عدوى الميكروسبوريديا infectivity of microsporidians

لمعلوماتنا لم يجرى الا القليل جدا من الدراسات عن مرضية البروتوزوا على الكائنات المائية غير المستهدفة NTO's وكذلك عن خصائصها الابادية على الحشرات. بعض الميكروسبوريديا الفعالة ضد يرقات البعوض أو هاموش عائلة سيموليدى تستطيع العيش والبقاء فى الحشرات الميتة أو فى البيض المعدى الخصب لأكثر من عشرة شهور. النوزيما سيتجومايا والنوزيما الجيريا وجدت فى الطور الساكن فى بيض الأيديس لفترة تزيد عن العام ومن ثم تصبح بعد قادرة على تلويث المفترسات. جراثيم نوزيما الجيريا تظل حية لمدة ١- ٢ شهر على درجة حرارة ٢٠°م. لقد وجد أن النوزيما الجيريا وفافرالا كيوليسيس قادرة على التأثير على العوائل المختلفة بما فيها الرخويات وسمك الكراى.

فى احدى الدراسات تمت تغذية تسعة مفترسات مائية على يرقات البعوض التى سبق عدواها بكثافة بالنوزيما الجيريا. من بين هذه الكائنات غير المستهدفة اتضح أن ٥%من النوتونكتا انديولاتا (غير متجانسة الاجنحة) التى أختبرت طورت عدوى المفترسات الاخرى مثل الدراجون فلاى، هيدروفيليد ، نيبيد، ميجالوبتيران، ويمكايود والسمك أكل اليرقات جامبوزيا أفينيس تأثرت. اذا تم الاخذ فى الاعتبار أن تغذية الكائنات مباشرة بجرعة عالية من الممرض أكثر خطورة عما لو لامست مرة الماء الملوث مما جعل الباحثون يعملون الى الاستنتاج بأن النوزيما الجيريا أمنة للعديد من الكائنات المائية الاخرى. من جهه أخرى فان المعدل المنخفض للوفيات فى اليرقات التى تتعرض للنوزيما الجيريا والفافرا كيوليسيز (فيما عدا فى حالة بعوض الانوفيلس) لا تشجع التوسع فى استخدام هذه الميكروسبورا.

خلاصة القول **حول أخطار وأضرار المبيدات الحشرية الميكروبية على أحياء المياه العذبه: بعد هذا الاستعراض قد يكون من المفيد الإشارة الى بعض وأهم الاستنتاجات التى توصل إليها باحثون آخرون عن الأحياء المائية.**

" ليس هناك خطر من التأثيرات المرضية للمبيدات الحشرية الميكروبية على الكائنات غير المستهدفة .... " يعتقد الكاتب أن الممرض يجب أن يسجل كوسيلة أمنه عندما يكون هناك دليل يؤكد ذلك وإذا لم يكن هناك دليل قوى لا يسجل المركب. بالطبع لا وجود لموقف "عدم الخطر no risk" وبالتأكيد هذا ليس موجود مع المبيدات الكيميائية وحتى مع الوسائل الحيوية حيث لا يمكن أثبات التأثيرات الموجبة بشكل مطلق.

"There is no danger of ill- effect of microbial insecticides on nontarget organisms..."

"I believe that a pathogen should be registerd as safe when there is reasonable evidence that it is so and in the absence of concrete evidence that it is not. A "no risk" situation does not exist, certainly not with chemical pesticides, and even with biological agents one cannot absolutely prove a negative."

الآن أصبح واضحا أن مكافحة ناقلات الأمراض وكذلك الآفات الزراعية وتلك التى تصيب الغابات لا يمكن أن تعتمد كلية على استخدام الكيميائيات بسبب التخصصية المنخفضة لها وخطورة التلوث البيئى وكذلك زيادة ظاهرة المقاومة فى الحشرات بعد الاستخدامات المكثفة. الممرضات الميكروبية ذات مقدرة فائقة ولكنها بالضرورة خاصة مع النظم البيئية للمياه العذبة تحتاج عناية أكثر من تأثيراتها المحتملة.

بالرغم من الكم الهائل نسبيا من الدراسات والتطبيقات الخاصة ببكتريا الباسيلليس ثورينجينسيز الاسرائيلية الا أنه يبدو ظهور وبروز كم هائل أيضا من الأسئلة التى تحصل عنها اجابات جزئية غير كاملة. لقد سجلت ونشرت هذه الأسئلة بواسطة الباحث Forsberg وآخرون (١٩٧٦) فى معرض الحديث عن سمية الباسيلليس ثورينجينسيز والتى يمكن تلخيصها فيما يلى:

١ـ ماهى التأثيرات السامة لمكونات المستحضرات التجارية للمبيدات الحشرية الميكروبية على المدى المتوسط والطويل؟

٢ـ ما هى كمية المستحضر التى تدخل الى البيئة ولاى مدى تظل ثابتة من حيث المكونات السامة فى كل من النظم المختلفة للتطبيق؟

٣ـ ما هى التأثيرات على النظم البيئية التى ترتبط بالاستخدامات الحقلية الواسعة وعلى المدى الطويل للمبيدات الحشرية الميكروبية؟

٤ـ هل الاستخدام المكثف للممرضات الحشرية تؤدى الى حدوث طفرات فيها؟ هل الوسائل الميكروبية حساسة للتحورات بواسطة النقل الوراثى فى صور أخرى؟ هل هذه الصور الجديدة قادرة على انتاج مكونات سامة أو مكونات ذات سمية محورة أو تخصصية العائل؟

هذه الأسئلة تفتح مجال خصب للدراسات والبحوث على المستوى الاساسى والتطبيقى بما يتواصل مع حملات الاستخدامات الهادفة لهذه الوسائل الميكروبية. خلاصة القول أنه قد يكون هناك واقع وجود فيض كبير من الاختبارات المعملية على بكتريا الباسيلليس الاسرائيلية ومع هذا نعانى من نقص شامل فى اتجاه قياسية الدراسات المعملية والحقلية قادرة على تغطية كل المبيدات الحشرية الميكروبية. إن الاتفاق على اختبارات غربلة وتفعيل دقيقة ومنطقية سوف تمكن من الحصول على بيانات مقارنة بما يؤدى الى الحصول على تقييم أفضل للسمية تحت مختلف ظروف التطبيق. فى هذا المقام فان طرق وخطوات اختبارات الأمان للوسائل البكتيرية والفطرية التى وضعتها منظمة الصحة العالمية WHO (١٩٨١) يعتبر دليلا جيدا يحتذى به لوضع مواصفات قياسية أكثر عقلانية عن الأمان البيئى للبيئات المائية.

REFERENCES

Ali, A., Bacillus thuringiensis serovar. Israelensis (ABG- 6108) against chironomids and some nontraget aquatic vertebrates, J. Invertebr. Pathol., 38, 264, 1981.

Back, C., Boisvert, J., Lacoursiere, J. O., and Charpentier, G., High- dosage treatment of a Quebee stream with Bacillus thuringiensis serovar. Israelensis: efficacy against black fly larvae (Diptera: Simuliidae) and impoat on non- target insects, Con. Entomol., 117, 1523, 1985.

Colbo, M. H. and Undeen, A. H., Effect of Bacillus thuringiensis var. israelensis on non- target insects in stream trials for control of Simuliiae. Mosq. News. 40, 368, 1980.

Dejoux, C., Gibon, F. M., and Yameogo. L., Toxicite pour la faune non- cible de quelques insecticides nouveaux utilizes en milieu aquatique tropical. IV. Le Bacillus thuringiensis var. israelensis, Rev. Hydrobiol. Trop., 81, 31, 1985.

Foresberg, C. W., Henderson, M., Henry, E., and Roberts, J. R., Bacillus thuringiensis: Its Effects on Environmental Quality, Report 15385. National Research Conucil of Canada, ACSCEQ. 1976.

Garcia, R., Federici, B. A., Hall, I. M., Mulla, M. S., and Schaeffer, C. H., BTI. A potent new biological weapon, Calif. Agric., 34, 18, 1980.

LACEY, L. A., Escaffre, Philippon, B., Seketeli, A., and Guillet, P., Large river treatment with Bacillus thuringiensis (H- 14) for the control of Simulium damnosum s.l. in the Onchocerciasis Control Programme, Z. Tropenmed. Parasitol., 33, 97, 1982.

Mastri, C., Four- day fish toxicity study on Bacillus thuringiensis, Industrial Biotest Laboratries Ltd., information supplied by abbott Laboratories, North Chicago, Ill., 1970.

Purcell, B. H., Effects of Bacillus thuringiensis var. israelensis on Aedes taeniorhynchus and some non- target organisms in he salt march, Mosq. News, 41, 476, 1981.

Schnetter, W., Engler, S., Morawcsik, J., and Backer, N., Wirksamkeit von Bacillus thuringiensis var.israelensis gegen Stechmuckenlarven und Nontarget-Organismen, Mitt Dtsch. Ges. Angew. Entomol., 2, 195, 1981.

WHO, Informal Consultation on the Development of Bacillus sphaericus as a Microbial Larvicide, WHO/ TDR/ BCB/ sphaericus/ 85.3, mimeographed document, World Health Orhanization, 1085.

Yameogo, L., Modification des Entomocenoses d'un Cours d'Eau Tropical Soumis a Traitement An- tisimulidien avee Bacillus thuringiensisvar. Israelensis, Mem. D'ingenieur de l'Universite de Ouagadougou, mimeograph, 1980.

الفصل الثالث

التأثير الفعال للمبيدات الحشرية الميكروبية على البيئات البحرية ومصبات الانهار

من مقالة للباحث Couch and Foss اللذان قدما المقالة بالقول أن المناطق الشاطئية وعند مصبات الانهار تعتبر بوجه خاص مناطق تأثير للمنتجات وغيرها من تتابعات المشاريع الانسانية. لحقب زمنية كثيرة كانت هذه المناطق أماكن امتصاص تأثيرات الكيميائيات الصناعية والزراعية مثال ذلك أن المبيدات الكيميائية تدخل المياه العذبة ومناطق مصبات الانهار والشطآن على مستوى العالم منذ ما يسبق الحرب العالمية الثانية. فى السنوات العشرين الأخيرة تم تطوير وسائل مكافحة آفات حية وجديدة (فيروسية، بكتيرية، فطرية، بروتوزوا) كي تستخدم فى برامج المكافحة المتكاملة للآفات من مفصليات الارجل وناقلات الامراض. هذه الوسائل الميكروبية تقدم بدائل واعدة يمكن أن تحل محل المبيدات العضوية المخلقة الضارة. بسبب أن الوسائل الميكروبية يجب أن تظهر مستويات عالية من الأمان على الكائنات غير المستهدفة (NTO's) والنظم البيئية قبل أن تستخدم على نطاق واسع فقد تركزت الاضواء والاهتمامات فى الوقت الراهن بشكل مثير للانتباه عن امكانيات تأثيراتها البيئية فى المناطق الشاطئية خاصة عند مصبات الانهار والتى تعول مئات من أنواع الكائنات الحية غير المستهدفة. الاسماك واللافقاريات (خاصة الرخويات ذات الصمامان والقشريات) عندها مقومات التعرض للوسائل الميكروبية التى تدخل الى منطقة خلط المياه العذبة والمالحة عند مصبات الانهار. من الاهتمامات الخاصة حقيقة أن المنطقة التى يحتمل وجود معظم الوسائل هذه (مثل الفيروسات والبكتريا والفطريات والبروتوزوا) تحتوى أنواع مرافقة عامة مشاكلة congeneric وهى عبارة عن طفيليات طبيعية و/أو ممرضات فى العوائل الفقارية واللافقارية غير المستهدفة فى الشواطئ ومصبات الانهار.

أنواع كل الحشرات والقشريات جميعا مفصليات أرجل دقيقة تعتبر فى الغالب من العوائل الشائعة للممرضات الميكروبية من نفس القبيلة الميكروبية العالية (الجنس وما أعلاه). هذه الاجناس الميكروبية (التى توجد فى الحشرات والقشريات) لا ترتبط من الناحية التقسيمية فقط ولكن أنواعها تتقاسم نفس طرق احداث العدوى والمرضية وأحيانا السمية. بسبب أن معظمها يقع تحت المتطفلات والممرضات الا أن تحورات نشوء التطفل أدت الى العديد من التأثيرات المشابهة على عوائلها المختلفة. مع حقيقة

تقاسم الخصائص المرضية الا أنه توجد اختلافات كبيرة تشير وتؤكد ظاهرة التخصص العوائلى. فى معظم الحالات وبسبب استقرار وجود التخصص العوائلى لا يوجد من يتوقع وجود متطفلات ذات علاقات تطور ونشوء طويلة فى العوائل سواء كانت حشرية أو قشرية مع فجائية قبول واستغلال مجموعة جديدة من العوائل فى الطبيعة حتى ولو كانت العوائل المؤثرة تقع فى نفس المملكة التقسيمية. لذلك فان الكثير من الاهتمامات حول الاخطار المؤثرة لوسائل المكافحة الميكروبية للآفات على الانواع غير المستهدفة تركز على الاستثناءات الممكنة عن المتوقع خاصة عندما ترتبط الانواع غير المستهدفة عن قرب مع العائل الطبيعى العادى والتى قد تتعرض فجائيا لجرعات عالية من هذه الوسيلة الميكروبية.

هذه النقاط النظرية يجب أن تؤخذ فى الاعتبار عند التخطيط لتقدير وتحديد أمان الوسائل الميكروبية المستخدمة فى مكافحة الافات على الكائنات غير المستهدفة NTO's فى أى بيئة أو مكان معيشة. هذه الدراسات تجرى فى الجامعات وفى المعامل الحكومية والخاصة على مستوى العالم. هذه الدراسات تبنى على فرضية باطلة محتواها أن العدوى والتأثيرات المرتبطة بها لا تحدث فى الكائنات غير المستهدفة. فى الوقت الراهن لم ترفض هذه الفرضية بناء على نتائج التعرض التجريبى للأنواع البحرية وعند مصبات الانهار غير المستهدفة فى مقابل طرق التعرض الطبيعى للتركيزات العالية نسبيا للاطوار المعدية من المبيدات الحشرية الميكروبية.

وسائل المكافحة الميكروبية ودراسات الامان:

فى الوقت الحالى تم اختبار عدد قليل من الميكروبات لتحديد الأمان على أنواع الكائنات البحرية وعند مصبات الانهار غير المستهدفة. الغرض من هذا القسم يتمثل فى استعراض الدراسات وثيقة الصلة بالموضوع والتى شملت الاقترابات وتصميم التجارب وأنواع الميكروبات المختبرة والنظم المستخدمة والنهايات والنتائج التى تم تقييمها لتقدير مخاطر هذه الوسائل على الانواع البحرية غير المستهدفة. هذا الاستعراض المرجعى يرتب فى مراتب تبعا لنوع الوسائل الميكروبية على النحو التالى: فيروسات، بكتريا، فطريات، بروتوزوا.

أ- الفيروسات (كمثال الفيروس العصوى لحشرة أوتوجرافا كاليفورنيكا = (ACB)

لقد كان أساس الاختيار المدى العوائلى العريض بين حشرات حرشفية الاجنحة عما هو معروف جيدا عن الفيروسات العصوية وكمثال دودة الذرة Heliothis zea. لقد

تم تطوير عدد من الفيروسات العصوية من الحشرات للاستخدام العملى فى مكافحة الآفات الزراعية. حديثا وجد أنه يوجد على الاقل ثلاثة أنواع enzootic من الفيروسات العصوية فى الجمبرى والسلطعون crabs لاقت اهتمام نحو تحديد الامان من الحشرات الى القشريات وغيرها من الكائنات غير المستهدفة عند مصبات الانهار.

١- كيفية إحداث الفعل المفترض فى العوائل الطبيعية:

الاجسام الضمينة inclusion فى الفيروس العصوى تحتوى العديد من الفيريونات ذات الشكل القضيبى من مادة البروتين. الاجسام الضمينة هى الوسيلة التى توجد وتبقى فيها الفيريونات المعدية حتى تصل الى المسكن الدقيق الملائم وهو معدة الحشرة القابلة للاصابة. تحصل الحشرات على الاجسام الضمينة عن طريق التغذية على مواد ملوثة بالبراز من جثث الحشرات المريضة أو فى حالة المبيدات الميكروبية بعد الانتاج الكثيف فى المعمل والتطبيق فى الحقل. بمجرد الوصول الى معدة الحشرة المستهدفة وعند درجة حموضة عالية (١٠- ١٢) يتم ذوبان مادة بروتين الجسم الضمين. يتم تحرير وانفراد الفيريونات فى تجويف المعدة فى منطقة قريبة من الخلايا الطلائية القابلة للاصابة. المستقبلات على غلاف الفيريون أو الخلية يسمح بالارتباط بقسم microvilli الخلية الطلائية. الكابسيد النووى nucleocapsid للفيروس تدخل السيتوبلازم القمى للخلايا من خلال ميكانيكيات غير معروفة ثم تهاجر الى الغلاف النووى. بعد ذلك يقوم الكابسيد النووى بتوجيه وضبط نفسه عند الثقب النووى ويحقن (غير مغلف) الحامض النووى الدنا الخاصة به فى البلازم النووى. يحدث تكامل للدنا الفيروسى فى جينوم خلية العائل وكذلك تضاعف الفيروس ثم يبدأ انتاج الجسم الضمين خلال ساعات من التكامل.

التأثيرات الخلوية المرضية Cytopathic تحدث فى هذا الوقت فى خلايا الحشرات المصابة بما فيها تحلل Lysis أو تكسر breakdown الخلية بسبب نمو الاجسام الضمينة وفقد تكامل تركيب الخلية مع امكانية التغيرات الكيميائية غير العكسية irreversible التى لا شفاء منها فى الخلية. فهم هذه الاحداث فى العوائل الطبيعية للفيروسات العضوية مثل الحشرات والقشريات تقدم ملامح لنهايات التأثير فى دورة العدوى والحالة المرضية التى يجب أن تستخدم فى الدراسات المنظمة على الحيوانات غير المستهدفة. من الواضح أهمية استخدام بعض الطرق الهامة مثل الميكروسكوب الضوئى والميكروسكوب الالكترونى (EM) والاختبارات

السيرولوجية وطرق المجس الوراثى فى قياس نهايات التأثيرات المختارة endpoints.

٢- دراسات الامان:

لقد قام Lightner وأخرون(١٩٧٣) باجراء أول اختبار على الفيروس العصوى الحشرى فى مفصليات الارجل غير الحشرية وهو الجمبرى الابيض P.setiferus والجمبرى البنى P.aztecus. لقد تم تعريض الاطوار الشابة لمبكرة والمتأخرة juvenile stages الى الفيروس العصوى من حشرة نطاط البرسيم "أوتوجرافا كاليفورنيا" عن طريق الحقن العضلى والتغذية ببولى هيدرا الفيروس. لقد تم اجراء فحص تفصيلى بالميكروسكوب الضوئى والالكترونى للانسجة الأساسية من الجمبرى المعرض واتضح عدم حدوث عدوى مؤثرة أو مرضية مرتبطة بالفيروس. كذلك لم يحدث موت مرتبط بالتعرض. لقد تم نشر دراسات مكثفة عن احتمالات تأثير فيروس الحشرات على الاحياء البحرية بواسطة Couch وأخرون (١٩٨٤) حيث قاموا بتقدير امكانية حدوث العدوى والمرضية أو السمية من الفيروس العصوى A.californica فى نوعين من جمبرى مصبات الانهار P.pugio، P.vulgaris وسوف نشير لهذه الدراسات لاحقا بالتفصيل.

٣- حيوانات وظروف الاختبارات:

لقد تم جمع الجمبرى البالغ من مراقد تواجده وتم أقلمته لمدة ٣٠ يوم فى حوض كبير فى الخارج. لقد تأكد من عدم وجود مسبق للاجسام الضمينة للفيروس أو غيره من الممرضات من خلال العينات الروتينية للفحص النسيجى والتى تتخذ كأساس. الانسجة تحت الفحص تضمنت المعدة والمعى الاوسط والمعى الخلفى والبنكرياس الكبدى والعضلات والغدد. تم ملأ الجارات الزجاجية بقشر المحار النظيف مع نظم ترشيح بمياه البحر المرشحة (٢٥%). خلال اختبار الثبات static test كان يجرى تعويض الفقد بالبخر بواسطة المياه غير المتأينة. تم اختيار الجمبرى من المجموعة المتأقلمة ضمانا لتجانس الحجم وعدم أخذ الجمبرى الحبلى أى أخذ الافراد غير الحبلى nongravid وتوضع فى أوعية اسطوانية مغطاة بالشاش المثقب. بعد ذلك تم وضع الاوعية المقفولة على صوانى زجاجية فى المربى المائي aquaria التجريبى وللمقارنة حيث كان يضبط مستوى الماء تحت قمة الاوانى مباشرة. فيما عدا حالات الحقن اتضح أن تعرض حيوانات الاختبار من خلال التغذية هى أفضل الطرق الطبيعية كما أنها الطريقة المؤكدة للتأكد من

التعرض الداخلى للفيروس. خلال فترة الثلاثين يوما من الأقلمة فى مربى الاختبار تم اجراء محاولات تغذية مختلفة لتعظيم المعيشة وضمان صلاحية التحليل الاحصائى للاختبار. الامداد غير الملائم للغذاء يسبب الافتراس بينما الافراط فى الغذاء يسبب التلوث البكتيرى والتى تنهى حياة الجمبرى. لقد وجد أن تعرض الفيروس يتأكد ويكون مضمونا اذا تمت تغذية الجمبرى على كريات الطعام الملوثة بالفيروس مرتان فى الاسبوع (كرية واحدة مع كل وعاء مع كل تغذية) مع التخلص من الطعام الزائد من الاوانى فى اليوم التالى.

خلال الاختبار كان يتم فحص الجمبرى مرتان فى اليوم للتأكد من أن الافراد الضعيفة أو الميتة تم أخذها في الوقت المناسب للفحص النسيجى. كل الحيوانات التى تموت خلال الاختبار يتم تثبيتها فى خليط مثبت للفحص بالميكروسكوب الضوئى والالكترونى.

٤- **الفيروس- التجهيز والتغذية**

لقد تم تغذية الجمبرى على تحضير نقى من فيروس البولى هيدروزيس النووى A.californica والفيروس العصوى الممرض الذى ينتج فى الحشرة العائل "الدودة القارضة Spodoptera exigua". لقد تم تجهيز الغذاء المحتوى على الفيروس بطحن قشور عليقة السمك القياسية فى صورة مسحوق دقيق واضافة الكمية المعلومة من الفيروس ثم ضغط المسحوق فى كريات مع وحدة عمل الكريات التجارية.

الكريات الخاصة بالمقارنة كانت خالية من الفيروس. كل كرية كانت تزن حوالى ٠.٢٠ جرام بالتقريب. لقد كانت تتم تغذية الجمبرى مرتان فى الاسبوع مع كرية واحدة فى كل إناء. حيوانات المقارنة كانت تتغذى على كريات خالية من الفيروس. جمبرى التجريب كان يتغذى على كريات تحتوى على ١٥x١٠^٦ أجسام تضمينية للفيروس PIB's لكل كرية. هذا التركيز يزيد عن الكمية المطلوبة كى تسبب موت مؤثر فى الحشرة العائل (أكثر من ٣x١٠^٣مرة من تركيز الجرعة القاتلة Ldao). بعد كل يوم من بداية التغذية يتم ازالة الاكواب الى صوانى بلاستيك ثم يتم تنقيط الغذاء الزائد فى خزان زجاجى كبير ثم القاء الاكواب الى الخزانات. يتم تخليص البقايا الملوثة بالفيروس من التلوث عن طريق اضافة هيبوكلوريت الصوديوم الى الاناء الزجاجى والعينة البلاستيك وأدوات المطبخ. المخلفات من مربى المقارنة تغسل فى حوض به ماء الحنفية.

٥- التقييم الحيوى للغذاء

لقد تم اجراء التقييم الحيوى لكريات الطعام التجارية التى تستخدم لتغذية الجمبرى عن طريق وضع ٢ جرام من غذاء الجمبرى فى بيئة الحشرات نصف المخلقة ثم وضع واحدة من حشرات يرقات نطاط الكرنب الحديثة الفقس neonatant (ترايكوبلوزيانى) فى كل كوب تقييم. بالنسبة للمقارنة يتم تقديم غذاء غير ملوث ويقدم الغذاء المحتوى على الجرعة القاتلة النصفية Ld5o من البولى هيدرا فى عينات التجريب المعاملة. كان يتم استخدام ٣٦ يرقة فى كل مكرر من المكررين أى كان يتم تعريض ٧٢ يرقة T.ni لغذاء المقارنة و٧٢ يرقة أخرى للغذاء المجرع بالبولى هيدرا كذلك كان هناك ٧٢ يرقة P.ni و٧٢ يرقة دودة قارضة S.exiguae كمجموعات ضابطة للمقارنة مع عدم اضافة غذاء المقارنة أو البولى هيدرا الى بيئة الحشرات نصف المخلقة.

٦- الاختبارات السيرولوجية

لقد تم انهاء الاختبارات بعد ٣٠ يوم فى التعريض وبعدها تم قتل كل الحيوانات الحية التى داومت المعيشة وتم تجهيزها. العينات المجمدة من الجمبرى المعرض وكذلك المقارنة (كلاهما كان يشمل الجسم كله والاحشاء) تم تجهيزها للاختبارات السيرولوجية. لقد تم تجهيز السيرم المضاد Antisera ضد البولى هيدرا AcB الكلية وبروتين بولهيدرا AcB وبروتين بوليهيدرا الفيروس العضوى لحشرة T.ni تبعا لطريقة Tompkins (١٩٧٩). تم ترسيب مضاد السيرم باستخدام سلفات الامونيوم وتخزينها على درجة -٢٠٥م. تجرى اختبارات الانتشار المناعى immunodiffusion ضد الثلاثة مضادات السيرم والبولى هيدرا AcB فى الدودة القارضة باستخدام ١%بيو- راد أجروز فى المنظم تريس - باربيتال درجة حموضة ٨,٦. تم تحضين الشرائح لمدة ٧٢ ساعة على درجة حرارة ٥٤م فى حجرة الرطوبة ثم يضاف اليها ٠,١ ملليلتر كلوريد صوديوم لمدة ٣ ساعات ثم تغسل بالماء المقطر لمدة ١٠ دقائق ثم تصبغ فى محلول ٢% توماسى بريلينيت الازرق R- 250 ثم تزال الصبغة وتصور. يتم اجراء الفرد الكهربى المناعى فى شرائح زجاجية ١٠x١٠سم تحتوى على وسط من١٥ ملليلتر من ١%بيو - راد أجاروز فى المنظم مع درجة حموضة ٨,٦. تخرم الجدران فى الوسط ويضاف الانتيجين المناسب. يجرى الفرد الكهربى فى المنظم تريس ــ باربيتيورات عند ٨,٣ v/cm على ٥٩م لمدة ساعة و٤٥ دقيقة. بعد الفرد الكهربى يضاف الانتيسيرا

المناسب ثم يتم تحضين الشرائح على ٧٣ ساعة عند ٥٤م فى غرفة الرطوبة وتغسل وتصبغ وتزال الصبغة كما وصف قبلا مع شرائح الانتشار المناعى. يتم تعريض كل الروائق supernates لعينات المعاملة والمقارنة من الجمبرى المهروس والكريات بعد اضافة اومولر كربونات صوديوم إلى او ملليلتر كلوريد صوديوم الى الفرد الكهربى الخاص بالانتشار المناعى باستخدام مضاد السيرم ضد فيريونات T.ni وبروتين البولى هيدرا و/أو مضاد السيرم الى بروتين AcB.

٧- **الهستولوجى Histology**

الجمبرى الذى استمر فى المعيشة تقتل فى نهاية الاختبار وتحفظ فى مثبت Davidson. يتم ازالة كل الاحشاء كاملة وتجهز للفحص بالميكروسكوب الضوئى. بعد الغمس فى البارافين يتم عمل قطاعات طولية ٧ ميكروميتر وتصبغ روتينيا بصبغة هيماتوكسيلين لهاريس والأيوسين أو بطريقة البروموفينول الازرق المحورة. يتم فحص القطاعات للكشف عن الاجسام القرينة مع التركيز الخاص على أنوية بنكرياس الكبد وخلايا المعى الاوسط.

٨- **الميكروسكوب الالكترونى EM**

عينات البنكرياس الكبدى فى حيوانات المقارنة والمعاملة التى تحفظ للفحص الميكروسكوبى الالكترونى يتم تثبيتها وتجهيزها وغمسها فى الايبون. قطاعات الفضة تقطع على الميكروتوم الدقيق "الترا" ثم تصبغ باليورانيل أسيتات وسترات الرصاص. يتم البحث عن الانوية وسيتوبلازم خلايا بنكرياس الكبد من العينات العشوائية عند x٢٥٠٠ وحتى x٥٠٠٠ فى الميكروسكوب الالكترونى Zeiss EM10. يتم فحص كل القطاعات على كل مصبغة grid والكشف عن وجود أو غياب الاجسام الضمينة inclusion body والفيروس أو التأثير الممرض على الخلايا Cytopathic effect.

٩- **نتائج التقييم الحيوى للمادة فى العوائل الحشرية الطبيعية**

لقد حدث موت أقل من ٥% فى يرقات الحشرات T.ni أو الدودة القارضة S.exigua التى تغذت على غذاء جمبرى مصنع بدون الفيروس. لقد وصلت نسبة الموت الى ٤٧% فى يرقات T.ni التى تغذت على غذاء أو عليقة جمبرى تحتوى على الجرعة النصفية القاتلة LD5'o من AcB و٥٤,٦% موت بين حشرات الدودة القارضة.

١٠- الملاحظات الشاملة للعوائل غير المستهدفة خلال الاختبارات

عينات الجمبرى فى المقارنة والمعاملات التجريبية بعد ادخال الفيروس لم تظهر اختلافات فى سلوك التغذية ولا الاتزان equilibrium أو النشاط. لقد وصلت النسبة خلال الاقلمة فى الاوانى الموجودة فيها الى ٣٥-٤٠%. خلال الاختبار وصلت نسبة الموت (خلال ٣٠ يوم) ٣٠% بين حيوانات المقارنة فى مقابل ٢٨% فى حيوانات المعاملات التجريبية.

١١- نتائج الاختبارات السيرولوجية

أظهرت نظم الانتشار المناعى Immunodiffusion حزم الجسم المناعى المرسب precipitin مشابهه بين مضاد السيرم ضد بروتين البولى هيدرا للحشرة أوتوجرافا كاليفورنيا ومضاد السيرم antisera ضد البروتين بوليهيدرا T.ni لبروتين بولى هيدرا A.califarnica. ولو أن بروتين البولى هيدرا أ. كاليفورنيا لم يعطى تفاعل مرئى مع الانتشار المناعى الا أنه يعطى حزم الاجسام المضادة المترسبة مشابهه بواسطة الفرد الكهربى المناعى حيث أن الانتيسيرا ضد بولى هيدرين T.ni وأ. كاليفورنيا بوليهيدرين تعطى معظم الحزم السائدة سواء استخدمت مع باقى اختبارات الانتشار المناعى والفرد الكهربى المناعى. لم يتم الحصول على دليل سيرولوجى عن وجود بروتين البولى هيدرا أو بروتين الفيريون عن طريق الانتشار المناعى أو الفرد الكهربى المناعى باستخدام الانسجة الداخلية للجمبرى المعرض. كذلك كانت اختبارات التثبيت المكمل سالبة.

١٢- نتائج اختبارات السمية المرضية Histopathology

الفحص بالميكروسكوب الضوئى لم يكشف عن وجود اختلافات بين أنسجة الجمبرى فى عينات المقارنة التى عرضت للفيروس PIB's. لم يوجد دليل عن حدوث عدوى (اجسام ضمينة) أو أى استجابة مرضية أخرى فى البنكرياس الكبدى أو المعى الاوسط ولم تشاهد أدلة عن حدوث تغيرات فى الانوية أو السيتوبلازم والتى تشير الى حدوث عدوى فيروسية.

١٣- نتائج الفحص بالميكروسكوب الالكترونى

لم يظهر الفحص المتأنى فى المجالات المطلوبة فى القطاعات المتناهية الدقة للبنكرياس الكبدى أية علامات عن العدوى الفيروسية أو النشاط المرضى الخلوى فى العدوى الفيروسية.

ب- البكتريا (كمثال باسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع كورستاكى)

١- كيفية إحداث الفعل المفترض فى العوائل الطبيعية

تتكون تحضيرات الباسيلليس ثورينجينسيز من الجراثيم وأجسام شبيهة الجراثيم (بلورات). يحدث التأثير السام عندما تذوب أجسام أشباه الجراثيم Parasporal bodies وتنشط بواسطة انزيمات تجويف المعدة gutlumen مما يؤدى الى انفراد اندوتوكسين البروتين ويسبب انتفاخ وتحطم الغشاء الطلانى للمعدة. قد يحدث الطور المعدى عندما يتحطم الغشاء الطلانى للمعدة. كان يعتقد أن تسرب الهيموليف فى تجويف المعدة والذى يخفض من رقم الحموضة ينشط انبات الجراثيم والتى تحدث فقط مع بعض مجموعات الحشرات ولا تمثل أهمية بالنسبة للمرضية فى معظم الاحوال. يتبع ذلك مرور الباسيلليس أو الاطوار الخضرية خلال المعدة المحطمة فى الهيموسيل. فى داخل الهيموسيل يحمل الباسيلليس خلال الحيوان. يحدث تلف كبير فى المعدة والأنسجة الداخلية بواسطة الاندوتوكسين والنمو الخضرى للباسيلليس ثورينجينسيز وكذلك تحت النوع اسرائيلينسيز.

٢- حيوانات وظروف الاختبار

تم الاختيار والاتفاق على جمبرى الجزس Palaemonetes pugio لهذا الاختبار. تستخدم طريقتان من التعرض للباسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع كورستاكى: ١- كريات الطعام، ٢- المعاملة المباشرة عن طريق الانبوب الفمى gavaging. بالنسبة للجمبرى المعرض لكريات الطعام فان ظروف الاختبار تشمل نظام التغذية والتنظيف والتخلص من التلوث وهى نفسها كما ذكرت مع المواد الفيروسية. المعاملة الانبوبية الفمية تجرى عن طريق حقن محلول مادة الاختبار فى التجويف الفمى. تؤخذ عينات الهستولوجى فى وقت المعاملة الانبوبية وبعد ١٢،٣،٦ ساعة من المعاملة.

٣- البكتريا: التجهيز والتغذية

استخدم مستحضر مسحوق جاف من التجهيز التجارى للباسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع كورستاكى (قدرة ٤٠٠٠ وحدة دولية لكل ملليجرام). يتم تجهيز كريات الطعام عن طريق طحن قشور السمك الى مسحوق دقيق واضافة كمية معلومة من المسحوق الخام. يجهز الغذاء فى كريات كل منها يزن جرام تقريبا بقدرة ١٦٠٠٠٠ وحدة دولية تقريبا لكل كرية. يتم خلط معلق مركز من الباسيلليس ثورينجينسيز وماء البحر ويحقن فى التجويف الفمى لكل حيوان جمبرى والذى لم

يتغذى خلال الساعات الاربعة والعشرين السابقة باستخدام حقنة دقيقة ميكروليتر.
يتم حقن ما يقرب من ٨ميكروليتر من المعلق بكفاءة ٢٥٦٠ وحدة دولية فى التجويف الفمى لكل حيوان جمبرى. المعلق يتجاوز الطول الداخلى للقناة الهضمية فى أقل من ٢ ساعة مما يوضح ظهور شرائط براز جديدة.

٤- التقييم الحيوى للطعام

يجرى اختبار لكريات الطعام فى المقارنة ومعاملات التجريب لتحديد الكفاءة والعنفوانية فى العوائل الحشرية الطبيعية. يجرى التقييم الحيوى على T.ni والدودة القارضة S.exigua و S.Frugiperda عن طريق التغذية السطحية وكذلك الغرس فى الغذاء. يتم استخدام كرية واحدة لكل ٢٤ وعاء كل منها يحتوى على حشرة واحدة. يتم عمل معلق للكرية فى ٥ ملليلتر ماء مقطر ثم تخلط وتنقط على سطح الوعاء ويسمح لها بالجفاف أو تخلط مع الغذاء وتسكب فى الوعاء قبل وضع الحشرة الحديثة الخروج neonate فى الوعاء.

٥- الهستولوجى – التعرض بواسطة كريات

تم قتل كل الجمبرى الذى تعرض للمعاملة وظل على قيد الحياة وكذلك حيوانات المقارنة فى نهاية فترة الاختبار(٣٠ يوم) وحفظت فى مثبت دافيد سون. لقد تم التخلص وازالة القشور والدروع الخارجية Carapaces وتم غمس الجمبرى الكامل فى شمع البرافين. تم جمع القطاعات الطولية بسمك ٧ ميكرون وكذلك القطاعات العرضية باستخدام الصبغات الروتينية هيماتوكسين والايوسين.

٦- التعرض المباشر بواسطة الانبوب الفمى Gavaging

تم قتل كل الجمبرى المعرض وكذلك أفراد المقارنة فى نهاية فترات التجريب صفر،٣،٦،١٦ ساعة. تم تشريح القناة الهضمية للجمبرى وتم حفظها فى مثبت دافيدسون وتم تجهيزها للفحص بالميكروسكوب الضوئى. تم جمع القطاعات الطولية Parasagittal بسمك ٧ ميكرون وكذلك القطاعات العرضية بنفس السمك بالهيماتوكسيلين والايوسين.

٧- الميكروسكوب الالكترونى

تم اختيار الجمبرى من معاملات التعرض عن طريق الغذاء للفحص. تم تجهيز القناه الهضمية فقط من كل من الجمبرى المعرض للاختبار وكذلك أفراد المقارنة. تم أخذ عينات الانسجة من ثلاثة أماكن من كل قناه هضمية وهى المعى الامامى والاوسط والخلفى. تم تثبيت العينات وعمل القطاعات والصبغ والفحص

بالميكروسكوب الالكترونى Zeiss EM 10. لقد تم الاهتمام بأية تأثيرات سامة ممكنة على الخلايا الطلائية المبطنة للمعى الاوسط.

٨- نتائج التقييم الحيوى لمركب الاختبار فى العوائل الحشرية

لقد أتضح ان كريات الطعام التجريبية المحتوية على الباسيلليس ثورينجينسيز شديدة الفاعلية ضد ثلاثة أنواع من العوائل الحشرية عند هذه الجرعة بينما كريات المقارنة أحدثت وفيات فى الحدود المقبولة فى هذه البروتوكولات.

٩- الملاحظات الشاملة على العوائل غير المستهدفة خلال الاختبار

لم تلاحظ اختلافات واضحة فى سلوك الجمبرى المعامل وكذلك حيوانات المقارنة قبل وخلال وبعد التغذية. لقد وصلت نسبة الموت المتراكم ١٤% بين المقارنة فى مقابل ١٦% فى المجاميع التجريبية. لقد تأكد أن نسب الوفيات كانت فى الحدود المسموح بها تحت نظام التجريب المتبع وأن الوفيات كانت تحدث لأسباب أخرى بخلاف التعرض للباسيلليس ثورينجينسيز. لم تحدث وفيات بين حيوانات الجمبرى التى عوملت من خلال الانبوب الفمى بالباسيلليس ثورينجينسيز المسحوق والماء المالح.

١٠ - نتائج الهستو باثولوجى والفحص بالميكروسكوب الالكترونى

أظهر الفحص بالميكروسكوب الضوئى والالكترونى عدم وجود اختلافات بين أنسجة جمبرى المقارنة وتلك التى تعرضت للباسيلليس ثورينجينسيز. لم يثبت أى دليل يشير الى وجود البكتريا ولا أية تأثيرات سامة أو مرضية فى بنكرياس الكبد أو فى القناة الهضمية.

ج- الفطريات (كمثال Lagenidium giganteum – سلالة كاليفورنيا)

لقد تم عزل هذا الفطر فى الاساس من عائلة الحشرى الطبيعى وهو بعوض "كيوليكس تارسالين" وقد تم تسجيله كمبيد حشرى ميكروبى فعال. ولو أن الفطر لاجينيديوم جيجانتيوم من كائنات المياه العذبة الا أنه كان محط الاهتمام فى الدراسات الاولية للفطريات لاسباب ثلاثة. السبب الاول أنه يقدم نموذج لكائن حى من الطراز الاولى Prototype يصلح لطرق التطور الابتدائية والسبب الثانى أنه عضو من نفس الجنس L.callinectes وهو المعروف عنه أنه ممرض لبيض الكراب ويرقات القشريات فى البحار ومصبات الانهار، السبب الثالث أنه يعطى امكانية لدراسة التأثيرات الممكنة

على كائنات مصبات الانهار خاصة تلك التى تحدث فى ظل الملوحة المنخفضة حيث انه يتحمل هذه الدرجة من الملوحة.

١- طريقة احداث الفعل المفترض فى العوائل الطبيعية

الجراثيم أو البوغ الحيوانى Zoospora للفطر إل. جيجانتيوم وهو الخلية المتحركة تمثل الطور المعدى الذى يرتبط بالعمر الاول والثانى والثالث وبداية الرابع ليرقات البعوض الكيوليكس والاييدس والانوفيلس ويتحوصل encysts على الكيوتيكل. وبعد ذلك ينفذ ويبدأ فى النمو كهيفات. سوف نشير الى عملية النفاذية هذه. لقد اقترحت احدى النظريات التى وضعها Domnns وأخرون (١٩٧٧) عملية تتضمن انزيم يحلل البروتينprotolytic أو يحلل الدهون Lipolytic فى تزامن مع الضغط الميكانيكى. بعد كسر أو خرق breached الكيوتيكل تبدأ خيوط الهيفات فى النمو داخل اليرقة حتى تملأ الهيموسيل. عندئذ تطور الهيفا غشاء septa وتكون الكيس الجرثومى Sporangia. تنتفخ هذه الاكياس وتصبح بيضاوية وتبدأ فى تكوين مخرج exit أو أنابيب للصرف والتى تدفع خلال الكيوتيكل وتكون حوصلات خروج الى جسم اليرقة. البوغات الحيوانية تنقسم وتتكسر خارجيا داخل الحويصلات وتنفرد وتتحرر فى البيئة المائية التى تحيط ببقايا اليرقات عندما تعمل الاهتزازات التى تحدث بواسطة البوغات الناضجة على كسر غشاء الحوصلة التى تبدأ دورة جديدة.

٢- مزرعة الفطر لاجينيديوم وانتاج البيوغ

تحت القسم Subtaxon للفطر لاجينديوم جيجانتيوم (سلالة كاليفورنيا والتى أعيد عزلها من ولاية شمال كارولينا) على بيئة الاجار تم نقلها الى بيئة سائلة (البيئة القياسية) للنمو والصيانة. للأغراض التجريبية تم عمل مزارع متعددة على نفس المنوال من المزرعة الام. يتم تحفيز البيوغ عن طريق اضافة الماء المقطر الى المزرعة وخلط الخليط فى خلاط يعمل بالموجات فوق الصوتية بسرعة منخفضة. يبدأ انتاج البيوغ بعد ١-٢ ساعة من هذه الخطوة مع قمة الانتاج بعد ١٤-١٨ ساعة. المزرعة المخففة أو السائل يضاف الى موضع الاختبار بعد ٢-٦ساعات من اضافة الماء المقطر. لمنع انفراد وتحرر الفطر للبيئة يتم تحطيم مزارع الفطر.

٣- حيوانات وظروف الاختبار

لقد أجريت دراسات أولية على يرقات الجمبرى (P.pugio) فى ظل ظروف ملوحة ٥،٣ فى الالف. تم استخدام ثلاثة مجموعات كل منها مكون من عشرة يرقات مع كل مستوى ملوحة: مجموعة المقارنة، المجموعة المعرضة لمزرعة الفطر

لاجينديوم المحفزة (البيئة القياسية) والمجموعة المعرضة للمزارع المحفزة من الوسط عند ملوحة الاختبار المناسبة (٣، ٥ فى الالف). تم حفظ كل مجموعة على ٢٥°م فى أوانى فردية كل منها تحتوى على١٠ ملليلتر من ماء البحر على درجة ملوحة مناسبة. تم العدوى بمقدار واحد ملليلتر من المزرعة المحفزة كل يوم بعد الظهر لمدة أربعة أيام متتابعة. فى صباح كل يوم بعد العدوى يتم تنظيف الاوانى وتطهير ماء البحر. يتم اجراء ملاحظات عن الوفيات والاجهادات بشكل منتظم وتزال الكائنات المشكوك فيها وتفحص وتقيم من حيث عدوى الفطر بواسطة الفحص الميكروسكوبى للتحضيرات الطازجة.

تم اجراء دراسات أولية عن حساسية بيض ويافعات الجمبرى P.pugio للفطر L.giganteum. تم اختبار ثلاثة اناث حبلى كل منها فى طبق بترى مزرعى يحتوى على٥٠٠ ملليلتر من ٣ فى الالف ملوحة ماء بحر (٢٥°م) الذى أضيف اليه ١٠ ملليلتر من الفطر المحفز (بيئة قياسية). يتم تكرار التجريع لمدة أربعة أيام متتالية مع التنظيف والملاحظة بين كل تجريع. تم تجهيز بيض ويافعات الجمبرى للفحص النسيجى فى نهاية الاختبار. يتم صبغ الشرائح بالهيماتوكسيلين والايوسين وPAS والهيماتوكسيلين بغرض التقييم.

٤- نتائج الاختبارات الفطرية

خلال الاختبار لوحظتْ بعض حالات الوفيات فى يرقات جمبرى المقارنة والمعاملة. هذا بينما لم يظهر فحص الجمبرى الميت خلال الاختبار وفى نهاية الاختبار أية عدوى بالفطرأو علامات تشير الى أى علاقة بين الموت والاصابة بالفطر فى المعاملات. ربما يكون من أسباب الوفيات الاجهاد بسبب الملوحة أو أية أسباب أخرى بخلاف التعرض للفطر. أظهر الفحص الشامل والنسيجى ليافعات وكتل بيض الجمبرى عدم وجود أية عدوى بالفطر أو ارتباط البيوغ باليافعات أو الاجنة النامية.

د ــ البروتوزوا (كمثال نوزيما كانياتم Nosema Cuneatum)

١ــ كيفية إحداث الفعل المفترض فى العوائل الطبيعية:

الطور المعدى لبروتوزوا الميكروسبوريدية هو الجرثومة. جراثيم النوزيما يتم تناولها فى طعام العائل الحشرى المستهدف. فى المعى الاوسط للعائل تأتى الجراثيم أو تصبح بالقرب من الخلايا الطلائية للمعدة. يحدث الوفيات عندما تحرر الجراثيم أنبوب الصرف الذى يرتبط ببلازماليما الخلايا الطلائية أو أى نوع أخر من الخلايا الاولية.

يترك الاسبوروبلازم sporoplasm الجرثومة من خلال الانبوب مقلوب القطب للدخول الى خلية العائل الاولية المستهدفة. لا يعرف الكثير عن طرق دخول الاطوار المعدية المبكرة للميكروسبوريديا فى عوائلها. هذا ولو أن الخلايا المتجولة أو الهائمة Wandering cells خاصة الخلايا الميزنشيمية الوسطية غير المتميزة وخلايا الدم hemocytes والخلايا الملتهمة macrophages (اعتمادا على ما اذا كانت العوائل لا فقارية أو فقارية) وسوائل الجسم يحتمل أن تساعد فى توزيعها. فى الخلايا المناسبة تصبح الاسبوروبلازمات meronts. بالتأكيد فان الميكروسبوريديا تنتشر الى أنواع الخلايا النهائية مثل الخلايا العذبة والعضلات والاعصاب والانسجة الضامة حيث تسبب عدوى شديدة وكثير من تحطم الانسجة وفقد الوظائف الحيوية الهامة (مثل تحلل العضلات muscle lysis). عند مواقع الانسجة هذه يبدأ التجرثم Sporulation وفى العادة بعد التكبير الخضرى الفائق لأطوار Schizont stages. يتم تحرير الجراثيم فى البيئة أو تدخل عائل جديد عندما تتحلل الحشرة المريضة أو تؤكل بواسطة الملتهمات أو الكانسات/المفترسات Scavengers/ Peredators.

٢- حيوانات وظروف الاختبار

ظروف الاختبار متطابقة لتلك التى صممت فى دراسات التعرض للفيروسات من حشرة A.californica فيما عدا استخدام الجمبرى P.pugio فقط كحيوان اختبار. كذلك لم تجرى أية محاولات لفصل الجمبرى الاناث الحوامل من غير الحوامل لاغراض الاختبار.

٣- تجهيز وتغذية البروتوزوا

لقد استخدمت مركزات جراثيم النوزيما N.cuneatum وممرض الميكروسبوريديا من نطاط الاوراق الرحال فى شمال أمريكا "ميلانوبلس سانجوينيبيس" فى هذ الاختبار كانت كريات الطعام الملوث تجهز اسبوعيا. يتم طحن تسعة جرامات من طعام قشور السمك الى مسحوق دقيق ثم رش معلق الجراثيم فى الماء فوق مستحضر مسحوق الغذاء باستخدام البشبورى الرشاش ثم السماح للماء بالتبخير على درجة حرارة الغرفة ثم ضغط المسحوق الجاف فى كريات الطعام او جرام. هذه الطريقة تحقق جرعة كبيرة من الجراثيم (حوالى ٤٤٠٠٠٠ جرثومة لكل كرية) الى جمبرى التجريب مع كل تغذية. جمبرى المقارنة كان يتغذى على كريات طعام خالية من البروتوزوا على صورة رقائق من طعام السمك فقط. التعرض كان يتم بواسطة

كريات الطعام وكان نظام التغذية والتنظيف والتخلص من التلوث يتم كما ذكر قبلا مع المستحضرات الفيروسية.

٤- التقييم الحيوى للغذاء

تم اختيار العديد من كريات الطعام الملوثة والعادية للمقارنة من المقنن الاسبوعى وتم تخزينها على٤°م بغرض التقييم الحيوى. لقد تم ارسال كل عينات كريات الطعام الى وزارة الزراعة الامريكية لاختبار الفاعلية والمرضية ضد M.sanguinipes.

٥- الهستولوجى

تم انهاء الاختبارات بعد ٣٠ يوم ثم قتل جميع الجمبرى الذى استمر فى المعيشة وتم الحقن بمثبت دافيدسون وترك أثناء الليل فى فرن تحت تفريغ (٢٠ ضغط جوى Psi) للتأكد من كمال نفاذية المثبت. بعد ذلك تم تجهيز العينات لفحص المرضية النسيجية بعد المعاملة بالــ decalcifyer. تم تجهيز الجمبرى الكامل هستولوجيا للتمكين من الفحص الجيد للقناه الهضمية والبنكرياس الكبدى (غدة هضمية).

٦- نتائج التقييم الحيوى للبروتوزوا

أوضحت النتائج الاولية أن الميكروسبوريديا من كريات الغذاء الملوث كانت ممرضة وحية فى داخل العائل M.sanguinipes.

٧- الملاحظات الشاملة للعائل غير المستهدف خلال الاختبار

جمبرى المقارنة ومعاملات التجريب بعد المعاملة ببروتوزوا الاختبار لم تظهر أية اختلافات فى سلوك التغذية. لقد وصلت نسبة الوفيات بعد ٣٠ يوم حوالى٢٠%بين حيوانات المقارنة فى مقابل١٤%فى حيوانات التجريب. نسب الوفيات هذه كانت فى الحدود المقبولة مع بروتوكول التجريب.

٨- نتائج الهستوباثولوجى

لم تظهر اختلافات بين أنسجة جمبرى المقارنة وتلك المعرض لمستحضر البروتوزوا من جراء الفحص بالميكروسكوب الضوئى. لم تظهر أية علامات عن حدوث حالات مرضية فى أى من أنسجة بنكرياس الكبد أو المعى الاوسط. أظهر الفحص الهستولوجى عدم وجود دليل على وجود جراثيم ثابتة داخل القناه الهضمية للجمبرى المعرض وكذلك اتضح زوال الجراثيم المتناوله.

REFERENCES

Aly, C., Mulla, M. S., and Federici, B. A., Sporulation and toxic production by Bacillus thuringiensis var. israelensis in cadavers of mosquito larvae (Diptera:Culicidae), J. Invertebr. Pathol., 46, 251, 1985. 1985.

Brusca, J., Summers, M., Couch, J., and Courtney, L., Autographa californica nuclar polyhedrosis Virus efficiently enters but does not replicate in poikilothermic vertebrate cells, Intervirology, 26, 207, 1986.

Canning, E. U. and Lom, J. (with a contribution by Dykova, I.), The Microsporidia of Vertebrates, Academic Press, Orlando, 1986.

Couch. J. A., Martin, S. M., Tompkins, G., and Kinney, J., Asimple system for the preliminary evaluation of infectivity and pathogenesis of insect virus in a nontraget estuarine shrimp, J. Invertebr. Pathol., 43, 351, 1984.

Domnas, A. J. P., and Hickes, B. F., Sterol requirements for zoospore formation in the mosquito- parasitizing fungus Lagenidium, Mycologia, 69, 875, 1977.

Foss, S. S., Courtney, L. A., and Couch, J. A., Evaluation of a Fungal Agent (Lagenidium giganteum) Under Development as an MPCA for Nontarget Risks. Report EPA/600/X-86/229. U.S. Environmwntal Protection Agency. Washington. D. C., 1986.

Heimpel, A. M., Testing penaeid shrimps for susceptibility to an insect nuclear polyhedrosis virus, Environ. Entomol., 2, 611, 1973.

Jaques, R. P., Application of viruses to soil and foliage for control of the cabbage looper and imported cabbage worm, J. Invertebr. Pathol., 15, 328, 1970.

Lacey, L. A., Bacillus thuringiensis serotype H- 14, in Biological Control of Mosquitoes, Bull. No. 6, Chapman, H. C., Ed., American Mosquito Control Association, Freson, CA, 1985, 132.

Lightner, D. V., Proctor, R. R., Sparks, A. K., Adams, J. R., and

Thomas, E. D., Reichelderfer, C., and Heimple, A., Accumulation and persistence of a nuclear polyhedrosis virus of the cabbage looper in the field. J. Invertebr. Pathol., 20, 157, 1972.

McCray, E. M., Jr., Umphlett, C. J., and Fay, R. W.. Laboratory studies on a new fungal pathogen of mosquitoes, Mosq. News. 33(1). 1973.

Overstreet, R. M., Marine Maladies? Worms. Germs and other Symbionts from the Northern Gulf of Mexico, No. MASGP- 78-021, Mississippi-Alabama Sea Grant Consortium, Occan Spring. MS, 1978.

Percy, J. and Fast, P. G., Bacillus thuringiensis crystal toxin: Ultrastructural studies of its effect on silkworm midget cells, J. Invertebr. Pathol.. 41, 86, 1983.

Sapo. T., Nishimura. T., Oguma, K.. Momoyama, K., and Takeno. N.,Reculovipts infootion of cultured Kuruma snnmp, Penaeus Japonicus in Japan, Fish. Pathol.. 15, 185, 1981.

Shaw, B. L. and Battle, H. I., The gross and microscopic anatomy of the digestive tract of the oyster Crassosterea virginica (Gmelin), Can. J. Zool., 35, 325, 1957.

Sindermann, C. J., Principal Diseases of Marine Fish and Shellfish, Academic Press, New York. 1970.

Tompkins, G. T., characterization of Multiple Embedded Nuclear Polyhedrosis Viruses Isolatedfrom the Cabbage Looper, Ph. D. thesis, University of Maryland Park,1979.

الباب الثالث

أمان المبيدات الحشرية الميكروبية على الفقاريات

الفصل الأول: الأمان على الفقاريات ـ الإنسان Vertebrates-Human

الفصل الثاني: أمان المبيدات الحشرية الميكروبية على الفقاريات والحيوانات الأليفة والحياة البرية

الفصل الأول

الأمان على الفقاريات ــ الإنسان Vertebrates-Human

أ- تقديم واستعراض عام

من مقالة للباحثان J. P. single و J. A. shadduck حيث قدما بالقول أن تطور واستخدام المبيدات الحشرية الميكروبية سوف يزداد عندما تصبح المبيدات الحشرية الكيميائية أقل شيوعا بسبب المشاكل المرتبطة بظهور وتطور ومقاومة الأنواع الحشرية المستهدفة وكذلك السمية غير المستهدفة والثبات البيئي. المبيد الحشري الميكروبي الأول الذي سجل في الولايات المتحدة الأمريكية كان باسيلليس بوبيليا (١٩٤٨). بحلول عام (١٩٨٥) كان قد تم تسجيل١٤ ميكروب في مكافحة الآفات فيما يزيد عن١٠٠ منتج في أمريكا كى تستخدم في الزراعات الحقلية والغابات وفى مكافحة البعوض وفى داخل بيوت السكن. من منطلق المخرجات تتعرض المبيدات الحشرية الميكروبية لنفس الدراسات المتعلقة بالأمان للوقوف على تأثيراتها الكيميائية بما فيها دراسات السرطانية والعدوى. كمثال يتم تغذية أنواع الطيور على امتداد ٦٩٠ يوم وعلى الفئران ٧٣٠ يوم. كذلك تم إجراء الحقن في الابوين والاستنشاق والتغذية على المدى القصير على الفئران والجرذان وخنازير غينيا والمتطوعين من الآدميين. يتم تناول الآدميين جراثيم $١٠^{١٠}$ لكل يوم ولمدة خمسة أيام وتستنشق $١٠^{٩}$ جراثيم بدون أية تأثيرات مرضية. هذا بينما أصبح من المعروف أن حجم الاختبارات المتاحة لتقييم أمان المبيدات الحشرية الكيميائية لا يمكن تطبيقها بشكل مباشر على الوسائل الميكروبية لأسباب متعددة.

اختبارات أمان الكيميائيات تفترض أن التأثير البيولوجى المتاح يمكن أن تتحقق إذا تم المعاملة بجرعة عالية بما فيه الكفاية. من الناحية التقليدية يعبر عن الجرعة كجرعة نصفية قاتلة LD5O. على العكس يكون من المستحيل تحقيق الجرعة dose النصفية القاتلة باستخدام الوسائل الميكروبية إذا أعطيت لأنواع غير العوائلية باستخدام الوسائل التقليدية مثل الايروسولات والمعاملة الجلدية والفمية. كميات المادة المطلوبة لاحداث الموت تكون كبيرة بحيث تسبب Suffocate حيوان الاختبار أو تحدث انسداد في القناه الجوفمعوية. الاختبارات الكيميائية تفترض كذلك أن المركب يمثل و/أو يخرج وأن نواتج التمثيل قد تكون سامة أو أكثر سمية عن المركب الاصلى. الآن لا يوجد

دليل أن المبيدات الحشرية الميكروبية تنشط تمثيليا في الثدييات. هذا ولو أن الدلتا-اندوتوكسين المذابة في القلوى من الباسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع اسرائيلينسيز قاتلة عندما تحقن في الجرذان وتقوم بتحليل Cytolytic لكرات الدم في الانسان والفيبروبلاست في الفئران وكذلك في المزارع الأولية للخلايا الليمفاوية في الخنازير خارج الجسم فان خطوة التنشيط لا تحدث في الثدييات بسبب أن ظروف المعدة غير مناسبة. الوسائل الميكروبية تختلف عن السموم الكيميائية لأنها تملك القدرة على التضاعف ولو أن بعض الوسائل الكيميائية تعزل في دهن جسم العائل وتحدث تأثير مع الوقت مما يستدعى ضرورة إجراء كلا الدراسات الحادة والمزمنة. في النهاية فإن اختبارات الأمان الكيميائي تفترض أن المعلومات الخاصة بالتركيب الكيميائي للمركب والمعلومات عن المركبات المرتبطة يمكن أن تعطى فكرة واضحة عن الأضرار المؤثرة للمركب على الانسان بينما يكون هناك تفاوت عريض disparity داخل نفس جنس الكائن الدقيق بالنظر إلى المدى العوائلى والمرضية. على سبيل المثال فان الباسيلليس ثورينجينسيز قاتلة لحرشفية الأجنحة بينما الباسيلليس أنثراسيز عبارة عن ممرض عنيف للمجترات والإنسان.

خلاصة القول أنه بينما أن المبيدات الحشرية و الميكروبية تتقاسم الأمان فيما يتعلق بالسمية والالتهابات والحساسية الا ان الوسائل الميكروبية متميزة فى مقدرتها على التضاعف فى العائل المناسب. فى هذا المقام سوف نلخص الدلائل لاجراء الأمان واختبارات الحكم عليه فى الثدييات مع الإشارة إلى الإصدارات الفاتحة المتعلقة بعدوى الثدييات وسمية الممرضات الحشرية مع التركيز على الممرضات الحشرية البكتيرية والفطرية والبروتوزوا.

ب- فلسفة تقييم الضرر:

لقد تعاظم الاهتمام فى اتجاه وضع بروتوكولات جديدة لاختبارات الأمان تبرز الخصائص المتميزة للممرضات الحشرية. فلسفة الاختبارات تعرف بالتحدى الأقصى maximum challenge الذى يؤيد استخدام أقصى ظروف اختبار قوة (extreme) مثل الحقن فى داخل العين intraocular أو داخل المخيخ intracerebral لكى تحدث تأثيرات بيولوجية واضحة يمكن الكشف عنها. الاقتراب المستخدم يتوازى مع مفهوم الجرعة النصفية القاتلة LD_{50} ولكن طريق التعرض مختلفة عما هو الحال مع تقدير الجرعة. فى اختبار التحدى الأقصى فان الجرعة الممكنة الأعلى (تعتمد على الحالة الطبيعية

للمادة) تعطى عن الطريق الذى يعتبر من أكثر الطرق شدة فى تعريض الدفاعات الطبيعية للحيوان إلى الخطر. اختيار الطريق الأكثر تعرضا للحيوان تبنى على معيارين المعيار الأول يتمثل فى البحث فى الدراسات المرجعية للوقوف على الحالات والظروف التى تم فيها عزل الكائن الحى من الانسان أو الحيوانات أو حيث كانت أعراض ومناطق الضرر تنتج بواسطة الكائن محل الاعتبار أو الأنواع قريبة الصلة بها. فى هذه الحالة يتم تصميم الاختبارات بما يستهدف النظام المناسب من الأعضاء organ system فى محاولة لإعادة وتكرار العدوى. المعيار الثاني يتمثل فى أن بعض أعضاء جسم الثدييات مثل المخ أو الأعين تعتبر ذات قابلية عالية للعدوى بسبب محدودية مدى الاستجابة والتأثير المدمر devastating حتى لو كان متوسط على وظائف هذه الأنسجة. هذه الأساسيات موضحة ومعمول بها فى اختبارات الأمان فى الممرضات الحشرية. البكتريا B.sphaericus تشترك فى الحالات القاتلة من الالتهاب السحائى meningitis فى الانسان ومن ثم فان اختبارات التحدى الأقصى للامان تشمل دراسات الحقن فى المخيخ. على نفس المنوال فان الميكروسبوريديا E.cuniculi تسبب ضرر فى مخ الأرانب والرئيسات primates ولذلك تم حقن الميكروسبوريديا الممرضة للحشرات "نوزيما الجيريا، نوزيما لوكاستيا " فى مخ الأرانب كجزء من مجهودات تقييم ضررها على الثدييات.

الصعوبة الأولية المرتبطة باختبارات التحدى الأقصى تشمل تمثيل interpretation بيانات الموت ومحاولة استقراء اخر هذه النتائج وأمانها على الانسان. الرفض قبل الأوان premature rejection للمركب ذات أهمية كبرى بسبب أنه حتى الكائنات غير الممرضة تستطيع إحداث الموت عندما تحقن بكميات كبيرة فى الموقع القابل للإصابة مثل المخ ومن ثم نقول أن المقدرة على إحداث الموت لا يجب أن تؤدى إلى رفض المركب بشكل اوتوماتيكى الا اذا تم تقييم ما يحدثه المركب من خلال طرق أخرى للتعرض. قيمة هذه الاختبارات تقع فى النتائج السالبة التى تعطى أدلة موثوق فيها عن أمان الكائن للثدييات واستقراء ما قد يحدثه على الانسان بالإضافة إلى ذلك فان المعلومات المرتبطة بما يعرف بسيناريو "الحالة الأسوأ Worst case" مثل الحقن فى المخيخ قد تثبت عدم قيمتها فى الحالات حيث تم عزل الممرضات الحشرية من الانسان.

ج- دلائل الاختبارات Testing guidelines

بروتوكولات اختبارات الأمان الحالية تدمج اختبارات التحدى الأقصى مع الطرق التقليدية للتعرض. فى عام ١٩٨١ قامت منظمة الصحة العالمية (WHO) بنشر مضبطة تشمل ثلاثة برامج فى ثلاثة بطاريات لاختبارات الأمان على الثدييات للممرضات الحشرية. البطارية الأولى tier تستخدم اختبارات قصيرة المدى (٤ أسابيع أو أقل) لتقييم القدرة على العدوى والسمية وأحداث الالتهابات والحساسية عن طريق التعرض الفردى عن طريق الفم والاستنشاق والحقن الوريدي والجلد والعيون. يجب الا تزيد الجرعات عن ٥ جرام/كجم وأن أدنى جرعة بالحقن الوريدي كانت ١٠^٦ كائن لكل فأر فى مقابل ١٠^٧ كائن لكل جرذ. الاجتياز الناجح للبطارية الأولى (Tier I) يؤدى إلى إعلان أن الممرض الحشري أمن بلا أية قيود أو حدود ومن ثم فان هذه البطارية تحيد عن أو ترحل دراسات السرطانية على المدى الطويل والمكلفة جدا عما هو الحال مع المبيدات الحشرية الكيميائية. البطاريات II و III تتضمن تطوير بيانات التعرض وكذلك الدراسات على المدى الطويل مع التعرض الفردى والمتعدد للتقييم الكمي للسمية والمقدرة على إحداث الالتهابات. بالإضافة إلى ذلك فان الحقن فى المخيخ موصف فى بروتوكول البطارية الأولى I مع البروتوزوا بسبب قابلية الجهاز العصبى المركزى فى الثدييات للإصابة بالكائن E.cuniculi. مفهوم البطاريات الثلاثة هذه تم وضعه وتطورة بواسطة وكالة حماية البيئة الأمريكيةUS EPA فى عام ١٩٨٢حيث تعتبر هذه الاختبارات كأساس الدلائل توصف نوع الثدييات التى تختبر وكذلك عدد الحيوانات فى كل مجموعة معاملة وتقرير ما اذا كانت الحيوانات التى فيها مناعة قد تتضمن فى اختبار البطارية الأولى.

تقييم الدور الذى يلعبه نظام المناعة فى العائل فى تصفية الممرض الحشري من خلال استخدام الجرذان ناقصة المناعة العقلية ahlymic كحيوانات تجارب أو استخدام مخفضات المناعة الكيميائية مثل الهيدروكورتيزون والسيكلوفوسفاميد والتى تعتبر امتداد عقلانى لفلسفة التحدى الأقصى. هذا التوجه لم يشار اليه فى كتيب WHO وقد نظر اليه من قبل البعض نظره عكسية بسبب الصعوبة المرتبطة مع الموجدات الموجبة مثل العدوى أو الموت وصحة الانسان. لقد لاحظ بعض الباحثين أن أصناف مخفضات المناعة المتاحة والمتوفرة وكيفية إحداث الفعل المتباينة لها تجعل من المقارنات بين دراسات الأمان من الصعوبة بمكان. لذلك تم التعبير عن الرؤى بأن الناس ناقصى المناعة قد تعانى من الامراض الطبيعية فى الفقاريات قبل أن تتمكن

الممرضات الحشرية من القيام بدورها ولكن السؤال يظل مطروحا. مظاهر نقص المناعة المكتسبة Acquired Immunodficiency أو ما يعرف بالمختصر"AIDS" يسود فى المناطق التى تمثل ممرضات الحشرات مكون هام فى برامج مكافحة النواقل Vector control. فى أمريكا الشمالية وأوربا الغربية يعامل مرضى السرطان بالعلاج بمخفضات المناعة وهذا من الأمور الشائعة بما يؤدى إلى الاهتمام بالجزء الخاص بتشريعات وكالة حماية البيئة الأمريكية EPA حول الضرر المحتمل الذى يحدث لهؤلاء الأفراد بواسطة ممرضات الحشرات.

في الوقت الراهن فان السمية تحدث مع البكتريا والفطريات ولكنها لم تظهر مع البروتوزوا أو الفيروسات وأحداث العدوى موضوع مرتبط بالمجاميع الأربعة كلها. المركبات التى تجتاز اختبارات البطارية الأولى تعتبر غير ضارة على الثدييات وما يستقرأ منها على الانسان ولكن على الفرد أن يحذر ويحتاط تجاه الأمان المطلق لأى ممرض للحشرات. لقد خلص الباحث Burges (١٩٨١) إلى "عدم وجود موقف لا خطر no- risk" وبالتأكيد ليس مع المبيدات الكيميائية وحتى مع الوسائل الحيوية وحيث لا يمكن لأى فرد أن يثبت أنها سالبة الخطر بشكل مطلق. تسجيل المركب الكيميائى ما هو الا مخرج ونتاج الاستخدام حيث تكون الاخطار مقبولة. نفس القول قد ينطبق على الوسائل الحيوية.

Currently, toxicity is an issue with bacteria and fungi but it has not been demonstrated with protozoa or viruses: infectivity is a concern with all four groups. Candidates that pass Tier I are considered nonhazardous to mammals and by extension to man. But one must by extension to man, but one must be ware about claiming absolute safety for any entomopathogen. Burges summed this up when he noted that "A"no- risk" situation does not exist, certainly not with chemical pesticides, and even with biological agents one cannot absolutely prove a negative. Registeration of a chemical is essentially a statement of usage in which the risks are acceptable. The same must apply to biological agent."

*** عدوى ممرضات الحشرات للثدييات Infectivity:**

أ- العدوى في مقابل الثبات infection VS persistence

تعرف العدوى على أنها غزو الجسم بواسطة الكائنات الدقيقة الممرضة وما يستتبع ذلك من رد فعل الأنسجة لوجودها. يمكن أن يشار للاصطلاح كذلك على أنه الوجود البسيط للكائنات الدقيقة داخل الأنسجة سواء كان ذلك سيؤدى إلى أو لا يؤدى

لتأثيرات مرضية. فى هذا المقام يشير الاصطلاح عدوى infection إلى تضاعف الكائن فى الثدييات والتى تقاس بواسطة وجود الأطوار الخضرية فى النسيج أو شفاء عدد متزايد من الكائنات الحية النشطة من الوسط مع تقدم الوقت. الاصطلاح "ثبات Persistence" يشير إلى بقاء معيشة الكائنات الحية النشطة بدون تضاعف. هذا يتضح ببساطة بواسطة الاسترجاع أو الشفاء البسيط للكائن. هذا التمييز الحاسم Crucial يرجع إلى أن المادة وأى مادة تستطيع التضاعف فى الثدييات تحدث أضرار كبيرة على الانسان على عكس تلك التى لا تتضاعف. من الناحية العملية يكون من الصعوبة التمييز بين العدوى والثبات باستخدام طرق المزرعة الميكروبية القياسية مثل الأضرار المشكوك فيها المزالة Swabbing suspect lesions لأن هذه الطريقة يمكن أن توضح فقط أن الكائنات الحية النشطة كانت موجودة ولكنها لا تقدر وجود مرحلة تاريخ الحياه. لسوء الحظ فان بعض البحاث ينظرون إلى الشفاء الميكروبى كمرادف للعدوى. لقد أدى ذلك إلى ظهور تقارير متضاربة عن ممرضات الحشرات التى تصيب الحيوانات والانسان. فيما يلى نتناول البيانات الخاصة بعدوى وثبات ممرضات الحشرات البكتيرية والفطرية والبروتوزوا فى الحيوانات المنيعة والتى فى طريقها للمناعة.

ب- ممرضات الحشرات البكتيرية En tomopathogenic bacteria

لقد نشر أن الباسيلليس ثورينجينسيز سببت قرحة فى عيون أحد الفلاحين بعمر ١٨ عاما تعرض للتلوث بالترشيش عرضيا فى الوجه بواسطة المعلق التجارى لهذا الكائن الدقيق. التشخيص بنى على أساس استرجاع الباسيلليس من مسحة العين بعد ١٣ يوم من التعرض ولو أن القرحة لم تفحص مباشرة للكشف عن وجود الصور الخارجية للبكتريا. لم يقتنع الباحثين بإمكانية أن الجراثيم قد توجد فى العيون وتسترجع ولو أنه ليس بالضرورة أن السببية ترتبط بالقرحة. لقد أجريت تجارب معملية على نوعين من الباسيلليس الممرضة للحشرات هما الباسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع اسرائيلينسيز والباسيلليس سفيريكس وأتضح ان كلا النوعان يسترجعا من عيون الأرانب بعد ٨ أسابيع من دخولها فى الرتج أو الكيس المسدود Cul-de-sac من الملتحمة conjunctival ولو أنه لا يوجد دليل على حدوث التضاعف. الغسيل الغزير Flushing للعيون المعاملة بالماء لمدة ٣٠ ثانية بعد التعرض لا يزيل كل مصدر العدوى. لذلك فان استرجاع جراثيم الباسيلليس ثورينجينسيز من المصاب بعد ١٣ يوم من التعرض يمثل حدوث ثبات. بالإضافة إلى ذلك فان هذا الكائن الدقيق يمكن أن

يسترجع من الطحال بعد ٨ أسابيع من الحقن الوريدي ومن المخ بعد ٤ أسابيع من الحقن فى المخيخ. لذلك يمكن أن نعتبر أن الجراثيم من العيون بعد ١٣ أسبوع من التعرض ليس بالعلامة أو الظاهرة المميزة Unremarkable.

هناك ادعاء غير مادى أن الباسيلليس ثورينجينسيز التى تغرس فى الطعام قد تؤدى إلى حدوث أضرار فى الرئتان Pneumonia والتهاب فى عضلات القلب myocarditis وفى الكبد فى الماشية وحديثا نشر ما يفيد بأنه لم يثبت حدوث أية أمراض من جراء وضع عديد من المستحضرات التجارية لهذا الممرض الحشري مع الغذاء. لقد لاحظ Hadely وأخرون (١٩٨٧) فى دراساتهم على الأغنام أن جراثيم الباسيلليس ثورينجينسيز لا تظل حية ونشطة فقط فى المعدة الأولى rumen للحيوانات المختبرة ولكنها تسترجع كذلك من الدم. بينما تؤدى هذه النتيجة إلى الاقتراح بأن هذا الكائن الدقيق له صفات وخصائص الغزو invasive والاختراق الا أن الخدوش والجروح فى فم الأغنام التى تتسبب من الطعام تعتبر أماكن الدخول إلى تيار الدم فى عدد من أصناف البكتريا مثل B.anthracis والاكتينومايسيس ليجنيريسى. بالإضافة إلى ذلك فان البكتريا مثل كلوستريديوم نوفياى تستطيع الهجرة السالبة خلال جدار الأمعاء المخدوش ثم تدخل إلى تيار الدم. لقد خلص الباحثون إلى ان ما حدث فى الغنم حيث وجدت الباسيلليس فى الدم لم تكن السبب لأية ظاهرة مرضية ومن ثم أعتبرت غير ممرضة nonpathogenic فى هذا العائل.

الجرذان التى تعانى من نقص المناعة الجزئية immunodeficient ليست حساسة للعدوى بالباسيلليس ثورينجينسيز عندما اختبرت فى المعمل. الجرذان العادية Athymic (nude) التى تعانى من نقص الخلايا الليمفاوية T ومن ثم نقص المقدرة على حمل هذه الخلايا التى تعتمد على استجابة الجسم المعتاد نجحت فى تصفية الكائن الدقيق من الطحال بعد الحقن البريتونى. لقد تم استرجاع Bt بعد ٥ أسابيع من الحقن ولكنها استرجعت كذلك من الفأر الهجين المنيع الطبيعي (BALB/c) فى نفس الفترة من الوقت. هذا بينما معدل التصفية يختلف ويتفاوت وقد أدت هذه التجربة إلى الاقتراح أن حالة المناعة قد تؤثر على ديناميكية التصفية. هذه التجربة توضح أن نظام المناعة الكامل طبيعيا غير مطلوب لتحقيق الدفاع الناجح ضد الباسيلليس وقد يمتد ذلك للإنسان.

لا يوجد ادعاء بأن الباسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع اسرائيلينسيز معدية للإنسان وقد يكون ذلك راجعا إلى أنها لم تستخدم على المدى الطويل كما حدث مع حشرات حرشفية الأجنحة وبالتالى يكون هناك تعرض أقل. لقد تعرض تحت النوع هذا

لاختبارات مكثفة عن الامان فى معامل متعددة. المعاملات عن طريق الفم والعيون والحقن البريتونى والايروسول والحقن فى المخيخ لهذه البكتريا فى الفئران والجرذان والأرانب لم تثبت أى دليل لحدوث العدوى. هذا ولو أن الباسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع اسرائيلينسيز لم تثبت أكثر من ٨ أسابيع فى طحال الفئران. لم يوجد دليل على حدوث تضاعف كما لم تحدث أى مرضية بعد المعاملة. لقد اختفى الكائن الدقيق تماما من رئتى الجرذان خلال أسبوع واحد بعد التعرض بالايروسول وحدث نفس الشئ من مخ الجرذان بعد ٣ أسابيع من الحقن فى المخيخ.

الفئران التى تعانى من نقص أو خفض المناعة ليست حساسة للعدوى للبكتريا Bt تحت النوع اسرائيلينسيز. الفئران العادية التى حقنت فى الوريد بتركيز ٢,٦ x١٠^٧ جراثيم والهجين (BALB/c) مخفض المناعة مع هيدروكورتيزون أسيتات (٦٠مللجم/كجم) وحقنت فى الوريد بتركيز٣,٤x١٠^٦ جراثيم نجحت فى تصفية هذا الكائن الدقيق من الطحال خلال فترة ٧ أسابيع. معدلات التصفية اختلفت بين الفئران العادية وتلك التى عوملت بالكورنيكوستيريود وكذلك الفئران غير المعاملة BALB/c والفئران المنيعة (سواء كانت عادية أو محقونة بالكورتيكوستيريود) ومع هذا لم يثبت وجود أى دليل على حدوث العدوى.

لقد تم استرْجاع B.sphaericus من الانسان وكان متضمنا فى تسعة حالات من الالتهابات السحائية فى الدماغ وحالة قاتلة من حالات الالتهابات السحائى الضعيفة Leptomeningitis وقد استرجعت من الورم الكاذب من رئة الانسان. هذه العزلات الآدمية غير مرضية للأرانب الصغيرة التى تم حقنها فى الوريد .i.v وفى الغشاء البريتونى .i.p أو فى الفئران المعدية عن طريق الوريد أو بالحقن البريتونى وفى المخيخ. العديد من العزلات الحشرية للباسيليس سفيريكس المتحصل عليها من WHO/CCBC (أرقام١٣٢١-١، ١٤٠٤، ١٥٩٣-٤) تعرضت لاختبار التعرض الخاص بالأمان مع التحدى الأقصى والبروتوكول التقليدي. لم يظهر الجهاز العصبى المركزى للأرانب والفئران أية قابلية للعدوى مع وحدات ٤,٧x١٠^٨ مستعمرة (CFU) من هذا النوع. الفئران التى تم حقنها فى المخيخ قامت بتصفية هذه الوحدات فى خلال ٧ يوم. الحقن فى العيون لوحدات ١x١٠^٩ CFU من B.sphaericus فى الأرانب لم تعطى أى دليل عن حدوث العدوى ولو أن الممرض الحشري لم يسترجع بعد ١٤ يوم من الحقن. العزلة الآدمية من هذا النوع NCTC#1102S التى حقنت تحت الجلد .sac وفى الغشاء البريتونى .i.p فى الجرذان والفئران لم تسبب عدوى. الفئران العادية التى

تعانى من نقص المناعة استقبلت ٩,٥x١٠^٨ CFU من NCTC#1102S تحت الجلد بدون أن تظهر أية مظاهر عدوى ولم يسترجع أى من هذه العزلات من مهروس النسيج.

التجارب الجارية فى المعامل على المستحضر التجارى من الباسيلليس سفيريكس التى تحصل عليها من الصحة العالمية WHO أوضحت أن الكائن الدقيق يمكن أن يسترجع من طحال الفئران بعد ١٠ أسابيع من الحقن البريتونى ip ومن الأكياس المقفولة فى الملتحمة للأرانب بعد ٨ ساعات من المعاملة. لقد أتضح أن الباسيلليس سفيريكس تبدو مقارنة لكلا BT وتحت نوعها اسرائيلينسيز فيما يتعلق بالثبات الطويل. أقصى ثبات لهذه الباسيللاى مدونة فى الجدول (٣-١).

جدول (٣-١): الثبات الأقصى للممرضات الحشرية البكتيرية والفطرية والبروتوزوية فى الثدييات

الكائن الدقيق	طريق الدخول	الثبات (يوم)	النوع
باسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع الكورستاكى	الغشاء البريتونى	أكثر من ٣٥	فأر
باسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع اسرائيلينسيز	الغشاء البريتونى	أكثر من ٧٠	فار
باسيلليس سفيركس	الغشاء البريتونى	أكثر من ٦٧	فار
ميتارهيزيوم أنيوبليا (أ)	الغشاء البريتونى	١٨	جرذ
لاجينيديوم جيجانتيوم(ب)	الغشاء البريتونى	٢٨	فأر
نوزيما الجيريا (ج)	تحت الجلد	٢٧	فأر
	الغشاء البريتونى	٤٢	أرنب

أ = لوحظت جراثيم بيضية oospores- لم تقدر الحيوية.

ب = أطوار قبل جرثومية- لوحظ بعد التضاعف

جـ = لوحظ وجود جراثيم- لم تقدر الحيوية- ترسب عرضى فى الكلى.

إذا لم يحدث إنبات لجراثيم البكتريا فأنها قد تسلك كجسيمات خاملة وهنا تكون ديناميكية التصفية مشابهه لجسيمات اللثى او الغرويات. هذا بينما قد يثار جدل حول ان الاسترجاع الطويل للبكتريا او الثبات فى الحقيقة تمثل تضاعف بطئ مع إحلال ثابت للبكتريا التى تحطمت خلال دفاعات العائل. إذا حدث استرجاع للجراثيم فقط بعد الحقن وعدد الكائنات يتناقص مع الوقت فان هذا السيناريو قد يسيطر ويحكم. بالتبادل فان استرجاع الصور الخضرية أدى إلى الاقتراح بأنه على الأقل تكون البكتريا ذات مقدرة على التضاعف.

لقد أجريت تجربة معملية باستخدام الفئران التى حقنت بجراثيم الباسيلليس سفيريكس لتحديد ما اذا كان الإنبات سيحدث حقيقة فى طحال الفئران وكذلك لتحديد معدل التصفية. لقد تم تسخين مهروس الطحال من ٤٠ فأر فى حمام مائي على درجة ٦٥°م لمدة ٣٠ دقيقة لقتل الباسيللاى (الأطوار الخضرية) حيث أن هذه الظروف لم تؤثر على الجراثيم. مقارنة عدد وحدات CFU المسترجع من محاليل الطحال المعامل المسخن والطحال غير المعامل أظهر أن محاليل الباسيلليس سفيريكس المعاملة والمسخنة تحتوى على عدد قليل بوضوح من CFU عن المحاليل غير المعاملة. لقد أدى ذلك إلى الاقتراح بحدوث إنبات للجراثيم. أظهرت تجارب المقارنة أن الجراثيم لم تتأثر بهذه الدرجة أو نظام التسخين الحراري كما أن مهروس الطحال المهروس لا يلصق الجراثيم agglutinate والذي قد يحدث فى مستعمرات قليلة. التجربة الموضحة أعلاه أظهرت إمكانية وجود مقدرة على التضاعف فى بكتريا الباسيلليس سفيريكس فى الثدييات ولو أنه لم تلاحظ الباسيللاى فى قطاعات الهستولوجى من أنسجة الطحال. عدد وحدات CFU لهذا النوع المسترجع مع الوقت يتناقص تبعا للمعادلة الوظيفية التالية:

$$Y = in\ 12.761 - 0.111X$$

حيث Y تساوى عدد وحدات CFU لكل جرام طحال ــ X تمثل عدد الأيام بعد الحقن.

جـ- الفطريات الممرضة للحشرات: Entomopathogenic fungi

لم ينشر على الإطلاق ما يشير إلى ان الفطر Metarhizium anisopliae يحدث عدوى فى الانسان. الفئران والجرذان والأرانب أعطيت هذا الممرض الحشري فى المعمل عن طريق الاستنشاق وتحت الجلد حقنا وفى الغشاء البريتونى حقنا وفى المعاملة القمية topical ولم تظهر أية أعراض عدوى أو مرضية. لقد تم استرجاع الكونيديا الحية من طحال الجرذان بعد ١٨ يوم من الحقن فى الغشاء البريتونى (جدول ٣-١) كما تم استرجاع هذا الممرض الحشري M.anisopliae من المعدة والطحال والرئتان فى الفئران بعد ١٤ يوم من استنشاق الكونيديا. هذا بينما انخفض استرجاع هذا الفطر واختفى من الرئتان بعد ١٤ يوم مما أدى إلى الاقتراح بعدم حدوث تضاعف. الحيوانات لم تختبر حيث أنها متوسطة المناعة فى المعامل حيث أشار البحاث فى السابق أن الجرذان ناقصى المناعة ليست حساسة للعدوى بالفطر ميتارهيزيوم أنيسوبليا.

بعد المعاملة عن طريق الجلد، الفم، فى القصبة الهوائية، فى الغشاء البريتونى وفى العين لم تحدث عدوى بالفطر L.giganteum على الجرذان والفئران والأرانب. لقد لوحظت الجراثيم البيضية Oospores فى خراريج absceses الكبد بعد ٢٨ يوم من الحقن البريتونى. هذا ولو أن حيويتها لم تقيم بسبب صعوبات الإنبات على بيئة المزرعة فان الإنبات والنمو يجب أن تحدث قبل الحقن (لقد لوحظ أن الجراثيم البيضية تتطلب عادة ٣٠ يوم أو أكثر من الأيام كى تتطور فى الماء). لقد لوحظت الميسيليومات فى خراجات المساريقا meseatric وهذه الخاريج يجب أن تعقم عند الزرع. ولو أن الفطر L. giganteum يوجه أو يتميز بالاستجابة الخاصة بالالتهاب inflammatory فى الثدييات الا انه لم يثبت وجود دليل على إحداث العدوى حيث أن درجة الحرارة أعلى من ٣٠°م تقتل طور الميسيليوم الخضرى. لم يتم معاملة هذا الفطر فى الحيوانات متوسطة المناعة. بناء على الحد الأعلى للحرارة ٣٠°م للميسيليومات وكذلك عدم المرضية فى الاختبارات يبدو أن هذا الفطر يمثل خطورة على الانسان.

د- البروتوزوا الممرضة للحشرات Entomopathogenic protozoa

لقد نشر الباحثان Unden and Alger (١٩٨٧) أن الحقن تحت الجلد بالفطر نوزيما الجيريا فى وسادة القدم footpads والذيل للفئران أحدثت عدوى. لقد لوحظت الأطوار الخضرية بعد عشرة أيام من الحقن بينما وجدت الأطوار ما قبل الجرثومية بعد ٢٧ يوم من الحقن (جدول ٣- ١). الجراثيم التى قتلت بالحرارة داومت ثابتة فى الأنسجة حتى ١٢ يوم. لقد ماتت النوزيما الجيريا خلال ٣ أيام من عدوى خلايا كلى الخنازير التى تم صيانتها على درجة ٣٧°م ولم توجد خلايا مصابة فى الاوانى التى تم تحضينها على درجة ٣٨°م. فى المعمل فشل الحقن البريتونى وتحت الجلد وفى المخيخ بالنوزيما الجيريا فى الفئران والأرانب فى إحداث النتائج المذكورة أعلاه حيث لم تحدث مرضية أو عدوى من خلال وجود الصور الخضرية. الفئران الهجن منخفضة المناعة من جراء المعاملة بالهيدروكورتيزون أسيتات (٢٥مللجم لكل فأر) لم تظهر قابلية للعدوى. الفئران العادية لم تختبر بسبب أن مصدر عدوى هذه الميكروسبوريديا كانت ملوثة بالبكتريا والفطريات من مهروس البعوض. لم يظهر أن النوزيما الجيريا تسبب تأثيرات ضارة على الانسان بسبب الحد الأعلى للحرارة لهذه البروتوزوا (٣٥°م) وكذلك عدم احداثه للضرر أى innocuousness عندما يحقن من خلال بعض طرق

اختبارات التحدى فى الثدييات ذات المناعة الطبيعية وتلك التى تعانى من خفض المناعة.

لقد استخدمت نوزيما لوكستيا فى مكافحة نطاطات الأوراق على امتداد عشرة سنوات دون أن تحدث أى حالة عدوى فى الانسان أو الحيوان. هذه الميكروسبوريديا تعرضت وشاركت فى اختبار التحدى الأقصى وكذلك الاختبارات التقليدية دون أن تسب مرضية أو عدوى. لقد تم حقن الأرانب فى الأعين وفى الغشاء البريتونى دون أية حوادث أو مرضية. لقد أظهر الفحص الميكروسكوبى وجود جراثيم N.locustae فى كبد فأر واحد بعد ٦ أسابيع من الحقن البريتونى. فى هذا الخصوص تم حقن الجراثيم عرضيا فى الكبد ولم تقدر حيويتها (جدول ٣-١)

لقد تم حقن الفئران فى المخيخ دون ان يحدث لها عدوى. لقد أحدثت النوزيما لوكستيا استجابة التهابات فى الثدييات وفى الغالب وجدت الجراثيم فى الاورام المحببة فى الطحال والكبد granulomatous foci. هذا ولو أنه يوجد كمية كبيرة من مادة الحشرة فى مسبب العدوى inoculum وهذا الملوث قد يوجه الاستجابة على صورة الالتهابات inflammatory حيث أن شرائح نطاط الأوراق بدون النوزيما لوكستيا أظهرت استجابة ورمية محببة كذلك. معاملة واعطاء الجراثيم للجرذان عن طريق الفم لم تحدث ضرر كما أن هذا المرض الحشري لم يكن مثير للالتهابات الأولية فى الجلد. من المثير للاهتمام تحديد ما اذا كانت ستبقى حية وذات حيوية على نفس فترات جراثيم البكتريا الممرضة للحشرات. أظهرت نتائج الاختبارات أن النوزيما لوكستيا ليست مرضية للثدييات المختبرة ومن ثم لا تمثل خطورة على الانسان.

هـ- العدوى infectivity: ممرضات الحشرات تملك أنواع من أطوار الحياة التى تستطيع الاستمرار فى المعيشة والبقاء عندما تصبح الظروف البيئية غير مناسبة للنمو والتطور الطبيعي (جراثيم/كونيديات/جراثيم بيضية). ليس من المستغرب أن هذه الكائنات الدقيقة تبقى حية وذات حيوية فى أنسجة الثدييات لفترات مختلفة من الزمن. وجود هذه الكائنات فى الأنسجة والاسترجاع المتتابع قد يؤدى إلى توجهات وأراء كاذبة Spurious عن العدوى لذلك وجب مزيد من الاهتمام نحو تقدير طور الحياه الذى يسترجع فى حالة حدوث عدوى حقيقية. يعتقد الكثيرين أن استرجاع الممرضات الحشرية من الانسان يحدد أوليا بواسطة تكرارية تعرض الانسان. مع تزايد استخدام المبيدات الحشرية الميكروبية فان عزل الممرضات الحشرية التى تنتج تجاريا من

الانسان من الأمور المحتومة التى لا يمكن تجنبها inevitable. توفر البيانات عن الأمان على الثدييات وكذلك تعاظم فهم فترة الثبات القصوى لهذه الوسائل الميكروبية فى الثدييات سوف يساعد فى تقييم أهمية ومعنوية وفائدة العزلات الادمية من الممرضات الحشرية اذا حدثت. بناء على البيانات المتوفرة عن الثدييات فان الانسان الذى يعانى من خفض المناعة لا يبدو أنه يواجه خطر كبير من العدوى من الممرضات الحشرية مقارنة بمجموع البشر العاديين.

*** سمية ممرضات الحشرات البكتيرية والفطرية على الثدييات:**

أ- **البكتريا:** فى المعامل تعتبر السمية toxicity حالة تستدعى الاهتمام عندما ترتبط بالتعرض لتركيز $١٠^{٦}$ أو أقل من البكتريا لكل فأر أو $١٠^{٧}$ أو أقل من البكتريا لكل جرذ (يوجد حدود للجرعة الفردية الابوية اقترحها Burger ١٩٨١). لقد لوحظ أن بعض الباحثين الاخرين اقترحوا اجراء الاختبارات على جرعة تساوى ١٠ أو ١٠٠ مرة مثل متوسط الجرعة الحقلية لكل اكر مع نسبة تحويل من نسبة وزن الحيوان إلى وزن الانسان. لقد تم الاتفاق على ان الموت فى حيوانات التجارب عند التركيزات أعلى من حدود بيرجز تكون مقبولة من حيث الأمان على الانسان ولو أن الجرعة النصفية القاتلة LD5O يجب تقديرها في الناحية العملية. التوكسينات الخارجية Exotoxins موضوع اخر ويجب أن يقيم كما هو الحال مع الكيميائيات باستخدام بروتوكولات أمان الكيميائيات القياسية وهذا ما لم نتناوله فى هذا المقام. من الأهمية ملاحظة أنه بينما البكتريا نفسها قد لا تكون سامة عندما تنمو فى مزرعة نقية فان مكونات المزرعة والنواتج الثانوية للتخمر قد تكون كذلك ومن ثم فان متطلبات التسجيل تشمل كلا المادة الفعالة والمركب أو المستحضر النهائى وضرورة تعرضها للاختبارات.

نتائج الاختبارات الاصلية التى نشرت عن الباسيلليس ثورينجينسيز أوضحت أنها سامة على الفئران عند تركيز $٣x١٠^{٨}$ وحدة CFU عندما حقنت فى الغشاء البريتونى كما كانت سامة على خنازير غينيا مع تركيز غير موصف. عامل السمية للفئران كان الثبات الحرارى حيث أن المزارع المعقمة بالاوتوكلاف سببت موت ٥ من ٥ فئران خلال ١٦ ساعة. لقد تأثرت خنازير غينيا كذلك حيث مات ٧ خنازير من بين عشرة من جراء الحقن البريتونى من مزرعة مائلة Slant culture بتركيز غير محدد. لقد خلصت هذه الدراسة ان السمية ترجع الى خصائص المادة الحاملة لانها ترتبط بالكائنات الحية. لقد قام الباحثان Lamanna and Jones (١٩٦٣) بتقييم

السمية واحداث العدوى عن طريق الحقن البريتونى لسلالات عديدة من الباسيلليس ثورينجينسيز وكذلك B.anthracis و B.cereus على الفئران ولاحظا أن الصور الخضرية كانت أكثر سمية من الجراثيم. لقد كانت الجرعة النصفية القاتلة لبكتريا BT على الأطوار الخضرية لكل فأر. لقد كانت السمية فى حدود المستويات المقبولة حيث أنها كانت تحدث مع مستويات أعلى من $١٠^{٦}$ من الكائنات. كمقارنة كانت LD5O لاحدى سلالات الباسيلليس أنثراكس تساوى جرثومتان لكل فأر وهذه تختلف بمقدار ١٠٠ مليون من بين هذه الانواع من الباسيلليس بالنظر للسمية على الفئران. لقد لوحظ أن نتائج هذه الدراسات قد تتأكد بواسطة وجود البيتا-اكسوتوكسين B- exotoxin ذات النشاط فى الثدييات كما أن السلالات التى تحتوى على هذا التوكسين الخارجى منعت من الاستخدام فى الولايات المتحدة الامريكية منذ ١٩٧٣.

أظهرت تجارب الحقن فى المخيخ باستخدام الجرذان فى المعمل مع سلالة لا تنتج البيتا- اكسوتوكسين- باسيلليس ثورينجينسيز3a.3b قابلية اصابة الجهاز العصبى المركزى لتركيزات $١٠^{٦}$،$١٠^{٧}$ وحدة CFU من الكائن الدقيق. لقد ثبت اعتماد الموت على الجرعة مع عدم حدوثه مع تركيز أقل من $١٠^{٦}$ كما كان عامل السمية هو حركة الحرارة. بيئة المزرعة أثرت على السمية حيث كانت BT النامية على بيئة منقوع المخ والقلب (BHI) أكثر سمية عن تلك التى نمت على اجار BHI (جدول ٣-٢). على عكس الدراسات السابقة كان يوجد عامل السمية الخاص بالحرارة heat labile. لذلك تم الابقاء على السمية فى الدلائل الخاصة بالامان خاصة عندما يؤخذ فى الاعتبار طريق المعاملة فى اختبارات عالية التحدى.

جدول (٣-٢): السمية المرتبطة لممرضات الحشرات البكتيرية والفطرية فى المعمل

الكائن الدقيق	طريق المعاملة أو الدخول	عدد الحيوانات الميتة/ المعرضة	الجرعة	النوع
BT كورستاكى	المخيخ	٦/٥	$١٠^{٧}$ ▪	جرذ
BT كورستاكى	المخيخ	٦/٢	$١٠^{٦}$ ▪	جرذ
BT اسرائيلينسيز	المخيخ	٦/٥	$١٠^{٧}$ ▪	جرذ
BT اسرائيلينسيز	المخيخ	٦/١	$١٠^{٦}$ ▪	جرذ
BT اسرائيلينسيز	الغشاء البريتونى	٤٢/٢٦	$١٠^{٨}$	فأر
BT اسرائيلينسيز	الغشاء البريتونى	٤٢/٣	$١٠^{٨}$	فأر•
B سفيريكس	المخيخ	٥/٥	$١٠^{٧}$	فأر★
B سفيريكس	الغشاء البريتونى	٤٩/٤٢	$١٠^{٨}$	فأر
لاجينيديوم جيجانتيوم	القصبة الهوائية	٩/٦	١٠	جرذ

* = فأر عارى ★= BALB/c فأر محقون بالهيدروكورتيزون أسيتات

▪ - لم تحدث وفاه مع تعقيم مصدر العدو

لقد أحدثت BT اسرائيلينسيز موت فى الجرذان بعد الحقن فى المخيخ وكانت سميتها مشابهه لسلالات حرشفية الاجنحة دون حدوث موت تحت معدل١٠^٦ وحدة CFU لكل جرذ. لقد كان عامل السمية هو الحرارة وكانت السمية تتأثر بمكونات بيئة المزرعة وكذلك حرارة التحضين. بيئة BHI broth على درجة حرارة ٣٠°م أنتجت معظم مصدر العدوى السامة الحقن البريتونى للنوع BT اسرائيلينسيز أحدثت وفيات فى أحد التجارب التى صممت لتقدير حساسية الفئران ناقصى المناعة وذات المناعة المتوسطة للعدوى تحت هذا النوع. لقد أعطيت الجرعة ٢,٦x١٠^٧ وحدة CFU لأربعين جرذ عارى وجرعة واحدة ٣,٤x١٠^٧ لأربعين فأر عارى BALB/c محقون بالكورتيكوستيرويد وعدد ٤٢ فأر عارى BALB/c للمقارنة. خلال فترة ١٠ ساعات حدثت وفيات فى ٦٢%من الفئران العارية. كذلك ماتت ٧%من الفئران التى عوملت بالكورتيكوستيرويد بينما استمرت كل حيوانات المقارنة فى المعيشة وقد لوحظ عدم وجود مواضع ضرر واضحة أو مميزة فى الفئران الميتة. لقد كان مصدر العدوى يتكون من معلق مغسول ينتج بواسطة أحد الصناع بينما كان المعلق التجارى ينتج من خلال قناة أخرى وكان يعطى خلال نفس الطريق من المعاملة ومع هذا لم يسبب أية وفيات. لم يكن متوقع وجود ملوثات بكتيرية حيث كانت المزرعة نقية. لذلك فان السمية قد تكون حدثت من البكتريا نفسها أو من نواتج التخمر التى تلتصق على الجراثيم البكتريا BT اسرائيلينسيز. تجدر الإشارة إلى ان السمية لم تحدث مع جراثيم أقل من ١٠^٧.

لن نتناول سمية الدلتا- اندوتوكسين المذابة فى القلوى (درجة حموضة ١٢) من BT اسرائيلينسيز على الثدييات لأن السم الاولى Protoxin لا ينقسم الى شرائح نشطة فى الثدييات. لقد ذكر حديثا أن البولى ببتيد KDa co مسئول عن الفعل الهادم والمحلل للدم لهذا التوكسين ومن ثم يجب أن يرتبط بمستقبلات الفوسفوليبيدات على غشاء الخلية لكى يزيد من النفاذية الخلوية Permeability.

عزلات ب- سفيريكس ١٣٢١-١٥٩٣،١٤٠٤،١٠١ النامية على بيئة مرق سفيريكس المخلقة وعندما حقنت فى المخيخ كمزارع مرق كاملة broth لم تكن سامة على الجرذان عند تركيز٦x١٠^٦وحدة CFU لكل جرذ ولكنها عندما حقنت فى الفأر فى المخيخ بتركيز ١,٢x١٠^٧ وحدة CFU عانت من نزيف فى المخ cerebral hemorrhages وماتت (الجدول ٣-٢). لم تحدث وفيات فى الجرذان بعد الحقن

البريتونى بعديد من تركيزات $2,4 \times 10^{8}$ وحدة CFU بينما الحقن تحت الجلد بتركيز $6,9 \times 10^{9}$ وحدة CFU فى الفئران لم تحدث تأثيرات معاكسة.

المعلق التجارى من ب- سفيريكس عندما حقن فى الغشاء البريتونى أحدث ٨٦% موت فى الفئران خلال ٢٤ ساعة (جدول ٣-٢). التجارب اللاحقة أظهرت أن السمية تعتمد على الجرعة ولم يحدث أى وفيات عندما تم حقن جرعة 10^{7} أو أقل من وحدات CFU. لم يوجد عامل السمية فى الراشح أو الرائق المترشح ولذلك فان السمية ترتبط بجراثيم هذا الكائن الدقيق أو النواتج التى تلتصق بغلاف القصرة وقد ثبت ان عامل السمية ثابت فى الحرارة. لم يتضح ما اذا كان التوكسين الابادى ضد الحشرات يسبب موت الفئران بسبب أن تجهيزات التوكسين الخام لبكتريا ب- سفيريكس ١٥٩٣، ٢٣٦٢ ليست سامة على الخلايا Cytotoxic للهامستر الرضيع خاصة خلايا الكلى وليست سامة على خلايا الدم الحمراء فى الانسان حيث ثبت أن حقن التوكسين الخام فى الماء المقطر (٧٥, ملجم/ملليلتر) فشل فى احداث قتل الفئران. سمية هذا المستحضر التجارى تقع فى حدود الامان الموضوعة. قد تظهر اختلافات بين تأثيرات المزارع المعملية والنواتج النهائية للكائنات الدقيقة.

ب- الفطريات: لقد تأكد أن الفطر ميتارهيزيوم أنيوبليا غير سام على حيوانات المعمل. طريق الدخول والمعاملة شملت الايروسول والحقن تحت الجلدى والانبوب الفمى gavage (التغذية القهرية خلال مضخة الدفق وأنبوب يمر فى المعدة) والمعاملة الفمية والتقطير فى العيون Ocular instillation والحقن البريتونى. لقد حدثت أضرار عن موضع الحقن تحت الجلدى (ورم جيبى تحت الجلد S.C.granulomas). لقد لوحظ الورم الجيبى بعد الحقن البريتونى ولكن هذا العرض قد ينتج من وجود جسيمات غريبة حيث أن البكتريا المعقمة فى الاوتوكلاف تنتج تأثيرات متساوية الشدة. لقد سبب الفطر L.giganteum موت مؤثر فى الجرذان (٦٧%) بعد التنقيط فى القصبة الهوائية للجراثيم البيضية بتركيز 1.2×10^{5} فى ٠,٥ ماء مقطر. لقد ماتت بعض الجرذان خلال أربعة دقائق من تناولها الجرعة بينما الفئران الباقية ماتت من الالتهاب الرئوى الحاد خلال ٢٤ ساعة. لقد حدثت الوفاة بسبب احتقان ممرات الهواء و/أو الالتهابات الكبيرة فى العائل بسبب الكميات الكبيرة من المادة الغريبة. خفض كمية العدوى الى $2,9 \times 10^{4}$ جراثيم بيضية فى نصف ملليلتر ماء مقطر لكل جرذ قللت من معدل الوفيات ولو أن الممرض موجودا فى الرئتان بسبب

الالتهابات التى حدثت فى العائل من المادة الغريبة. لم تكن هناك وفيات مرتبطة بالتعرض عن طريق الجلد أو الفم أو الاعين أو فى الغشاء البريتونى للبكتريا L.giganteum مما دعى الى القول بأن الكائن الدقيق هذا غير سام على الانسان.

جـ- **السمية** Toxicity: سمية البكتريا الممرضة للحشرات التى اختبرت معمليا وقعت فى حدود المستويات المقبولة وحدثت وفيات فقط خلال طرق الدخول الموجهه مثل الحقن البريتونى وفى المخيخ. لقد لوحظ أن المنتجات التجارية قد تحتوى على منتجات قد تكون سامة على حيوانات المعمل مع تركيزات عالية حيث لوحظ تفاوت بين المادة الجارية النامية فى المعمل والنواتج التجارية. تفاوت الموت قد يكون بسبب الاختلافات بين السلالات والعزلات ومع كل هذا فان ب. سفيريكس ثبت انها نوع معقد والافراد غير مميزة لبعضها البعض من حيث الاساسيات المورفولوجية. هذا تأتى من المعرفة المتوفرة حاليا عن الطرز السيرولوجية والنشاط المتفاوت الابادى على الحشرات. لقد لوحظ أن ب- سفيريكس سلالة ٢٣٦٢ تحدث موت بعد الحقن البريتونى لتركيز ١٠^{٩}وحدات CFU (ماتت ٦ فئران من ٦) ولقد خلص الباحثون أنه لا تحدث موت مع الجرعات أقل من١٠^{٨} وحدة CFU.

الموت فى الحيوانات المعرضة للفطريات كان ميكانيكيا عن طريق سد مسالك الهواء. لقد ثبت أن كلا الفطرين إل. جيجانتيوم، ام. انيسوبيليا ينتجا مواضع ضرر فى الرئتان والبريتون فى الجرذان والفئران وحيث أن المادة المعقمة فى الاوتوكلاف تنتج ضرر ذات شدة مقارنة خلص الباحثون الى أن الضرر ينتج من تفاعل العائل للمادة الغريبة الثابتة فى الحرارة. فى النهاية تم الاستنتاج بأن التجارب الحيوانية أدت الى الاقتراح بأن الممرضات الحشرية البكتيرية والفطرية لا تملك أية تأثيرات معنوية الا فى حالات الظروف المتناهية غير العادية عندما تحقن كميات كبيرة شاذة. قابلية الانسان للاصابة بالتوكسينات الخارجية موضوع اخر مستقل يجب أن يقيم تبعا لبرتوكولات تقييم الامان الموضوعة والمتفق عليها.

*** الخلاصة الشاملة**

منذ أربعة عقود مضت فقدت مالكة احدى مزارع الدواجن فى ميرلاند بأمريكا بعض من الطيور بعد معاملة المقاطعة بالباسيلليس بوبيليا. لقد رفعت مالكة المزرعة دعوى قضائية على مسئولى المقاطعة وأخذتهم الى المحكمة طالبة التعويض عما حدث من وفيات للدواجن. لقد دافع الباحث الدكتور جورج لانجفورد وهو مسئول برنامج

استخدام هذه البكتريا وشرح أمان الباسيلليس بوبليا على الفقاريات وفى معرض دفاعه تناول ملعقة من مسحوق الجراثيم فى الماء مما دعا القاضى لتعليق القضية وتمت ملاحظة العالم واستمرت حياته ما يزيد عن٢٠ عاما بعد هذه الحادثة. مسئول عن الحشرات فى ولاية ميرلاند. لقد تغير الزمن ولم نعد نعتمد على المتطوعين الآدميين لتحديد خطورة الكائنات الدقيقة على الانسان ولذلك أصبح من الافضل الاعتماد على البيانات من التجارب الحيوانية. لقد خلص الباحثون الى أن ممرضات الحشرات لا تحدث العدوى للانسان بالرغم من ثباتها لفترات طويلة من الوقت فى أنسجة الثدييات. خلصت التجارب المعملية الى أن الناس الذين يعانون من نقص المناعة ليسوا فى خطر كبير من جراء العدوى بهذه المواد عن الناس ذوى المناعة العادية. ممرضات الحشرات ليست سموم للانسان ولا أنها سامة على الفئران والجرذان بعد المعاملة بكميات كبيرة من البكتريا الحية التى تدخل الجسم عن طريق التناول أو الطرق الاخرى. مع الطرق التقليدية للتعرض فان الممرضات الحشرية المختبرة تكون غير محدثة للعدوى ولا تسبب أمراض. لذلك يمكن استخدامها بأمان فى البيئة التى يتعرض فيها الانسان بشكل طبيعى.

REFERENCES

Anon., Mammalian safety of microbial agents for vector control: a WHO memorandum, Bull. W. H. O., 95, 857. 1981.

Apperly, F. L., Ed., Patterns of Disease on a Basis of Pathology, Lippincott. Philadelphia., PA, 1951.

Belschner. H. G., Sheep Management and Discases. Angus and Robertson. London. 1959. 415.

Davis, B. D., Dutbecco, R., Eisen, H. N., Ginsberg, H. S., and Wood, W. B., Jr., Eds., Microbiology. 2nd ed., Harper & Row, New York, 1973.

Dorland's Illustrated Medical Dictionary, 24th ed., W. B. Saunders, Philadelphia, 1965.

Einstein. L. and Swartz, M. N., Pathogenic properties of invading microorganisms, in Pathologic Physiology – Mechanisms of Disease. 5th ed., Sodeman. W. A., Jr. and Sodeman, W. A., Eds., W. B. Saunders, Philadelphia. 1974, 454.

Fisher, R. and posner, L., Toxicology of the microbial insecticide Thuricide, Agric. Ood Chem., 7, 686, 1959.

Gill, S. S., Singh, G. P., and Hornung, J. M., Cell membrane interaction of Bacillus thurinheinsis subsp. Israelensis, cytolytic toxins, Infect. Immun., 55. 1300, 1987.

Heimpel, A. M., Safety of insect pathogens for man and vertebrates. in Microbial Control of Insect and Mites, Burges, H. D. and Hussey, N. W., Eds., Academic Press. New York, 1971, 469.

Ignoffo, C. M., Effects of entomopathogens on vertebrates, Ann. N. Y. Acad. Sci., 217, 141, 1973.

Jones, T. C. and Hunt, R. D., Eds., Veterunary Pathology, 5th ed., Lea & Febiger. Philadelphia. 1983. 581.

Kissane, J. M., Bacterial diseases, in Pathology, Vol. 1, Anderson, W. A. D. and Kissane. J. M., Eds., C. V. Mosby, St. Louis, 1977, 369.

Lamanna, C. and Jones, L., Lethality for mice of vegetative and spore forms of Bacillus cereus and Bacillus cereus- like insect pathogens injected intraperitoneally and subcutaneously. J. Bacteriol., 85. 532. 1963.

Newsom, I. E., Sheep discases. Williams & Wilkins. Baltimore. 1952. 3.

Samples. J. R. and Buettner, H., Corneal ulcer caused by a biologic insecticide (Bacillus thuringiensis). Am. J. Ophthalmol., 95, 258. 1983.

Thomas. W. E. and Ellar. D., Bacillus thuringiensis var. israelensis crystal delta endotoxin: effect on insect and mammalian cells in vitro and in vivo. Cell Sci., 60. 181. 1983.

Undeen. A. H. And Alger. N. E., Nosema algerea: infection of the white mouse by a mosquito parasite Exp. Parasitol., 40. 86. 1970.

الفصل الثاني
أمان المبيدات الحشرية الميكروبية على الفقاريات والحيوانات الاليفة والحياه البرية

(١) المقدمة Introduction:

أ- **تقديم واستعراض عام:** الافات وناقلات الامراض التابعة لمفصليات الارجل تلعب دورا مؤثرا على الانتاج الزراعى وصحة الانسان والحيوان. لقد تركزت مكافحة هذه الناقلات على تطوير واستخدام المبيدات الكيميائية. فى الاصل وفى البداية تحصل على نتائج جيدة من خلال الحملات الواسعة لمكافحة الافات ومع استمرار الاستعمال على امتداد٥٠ عاما ظهرت تفاوتات فى مخرجاتها مع ظهور مشاكل عديدة. لقد أدت التأثيرات الجانبية على الكائنات غير المستهدفة ومقاومة الحشرات المستهدفة لفعل المبيدات وتلوث البيئة وخلل التوازن فى مجتمعات الحشرات والمقدرة على احداث التشوهات الخلقية teratogenicity والسرطانية carcinogenicit الى تنشيط الاهتمام بوسائل المكافحة الاخرى بخلاف المبيدات.

زيادة الاهتمام باستخدام المبيدات الحشرية الميكروبية بدأ بعد ١٨٨٠ ولكنه كان محدودا ومحددا بسبب متطلبات النمو السريعة لممرضات الحشرات. بحلول الاربعينيات تم اكتشاف وسائل عديدة نافعة ودخلت الى حيز التطبيق. فى البداية لم يكن مطلوبا الا القليل لاثبات أن الكائن فعال وأمن. لقد كان من بين متطلبات التقييم عمل دراسة واستعراض عن الامان على الفقاريات. لقد قام الباحث Dutky بعزل ووصف الكائن المسبب لمرض اللبينMilk disease المتسبب عن الباسيلليس بوبيليا فى أواخر الثلاثينات و أمكن الحصول على حقوق ملكية فى أمريكا U. S. patent لتوزيع هذا الكائن فى الطبيعة بعد اجراء واستكمال بعض الاختبارات بما فيها تغذية الجراثيم بواسطة الزرزور Starlings والفراخ دون أية تأثيرات معاكسة.

لقد أصبح واضحا الحاجة الى اجراء بعض الاختبارات التقليدية التى تجرى على المبيدات للتنبؤ بمخاطرها على الثدييات وما يستتبع ذلك من احتمالات التأثير على الانسان. لقد كانت الولايات المتحدة الامريكية أول البلدان التى سنت قانون يتناول تسجيل المواد التى تستخدم فى معاملة المحاصيل الغذائية. لقد كان ذلك هو القانون الفيدرالى لمبيدات الحشائش والفطريات والقوارض لعام ١٩٤٧. فى

خلال ١٠- ١٥ سنة التالية لصدور هذا القانون وضعت الدول الاخرى تشريعات مشابهة لتلك الموضوعة فى أمريكا. لقد وضعت قوانين تنظم وتشرع بواسطة الحكومات في السويد والمانيا الغربية أنذاك وهولندا ونيوزيلندا وكندا وفرنسا والمملكة المتحدة واليابان وبلجيكا وتشيكوسلوفاكيا أنذاك وايران وبولندا وايطاليا واسبانيا والاتحاد السوفيتى وقتئذ وسويسرا.

مع تطور اختبارات الامان لمبيدات الافات أصبح من الواضح أن المبيدات الحيوية تتطلب اختبارات متميزة ليست مطلوبة بالضرورة مع المبيدات الكيميائية. من الاهتمامات الاولى مقدرة هذه الوسائل الحيوية على التضاعف مع احتمالات قوية للاستقرار فى البيئة واحداثها للعدوى فى الكائنات غير المستهدفة (NTO's). من الاهتمامات والنواحى الاخرى انتاج ونواتج تمثيل سامة أو Toxic metabolites وكذلك حدوث طفرات وراثية فى كثير من الكائنات الممرضة وتحفيز تفاعلات الحساسية allergic reaction وحدوث التهاب بالملامسة irritancy.

ب- **تصميم اختبارات الامان** safety test design: مع أن المبيدات الكيميائية والحيوية تتقاسم النتيجة النهائية فى مكافحة مفصليات الارجل فان الميكانيكيات الاساسية للمكافحة من خلالها قد تكون مختلفة. لقد تم تصميم الاختبارات مبكرا لتقييم المبيدات الكيميائية وقد قدمت النتائج اجابات جزئية عن الاسئلة التى كانت ومازالت عن أمان المبيدات الحيوية. لذلك قامت منظمة الصحة العالمية (WHO) فى عام ١٩٨١ باصدار مذكرة بعنوان "اختبارات الامان وتشريعات المبيدات الحيوية على الثدييات". لقد كان الغرض الاساسى من الاختبارات التى صممت بواسطة WHO اجراء تحليل الخطر/الفائدة risk/benefit analysis لكل من الاستخدامات المختلفة من الوسائل الحيوية المختلفة. لقد تم تطوير نظام اختبارات أمان على الثدييات مكون من ثلاثة بطاريات three-tier وكذلك تضمن الاصدار التوصيات الخاصة باجراء حصر منتظم ودورى للنواحى السيرولوجية على كل الادميين المعرضين للمرض خلال التطوير والتطبيق علاوة على اقتراحات خاصة ببداية اجراء الاختبارات المحدودة وتقدم التجارب الحقلية الموسعة.

لقد وضعت منظمة WHO قائمة بطرق التعرض الخاصة وأنواع الاختبارات الواجب اجراؤها ونوع وعدد أنواع الثدييات التى تستخدم فى كل اختبار. اختبارات البطارية الاولى تتضمن التعرض عن طريق الفم والغشاء البريتونى (ip)

والاستنشاق والعيون والجلد مع اختبارات الحساسية والحساسية الفائقة واصدارات الطفرات. بسبب ميل الوسائل الفطرية لاحداث تفاعلات الحساسية يجب أن تجرى اختبارات لدلائل اضافية مثل Arthus وتفاعلات فرط الحساسية المتأخرة delayed hypersensitivity فى اختبارات أمان الوسائل الفطرية. هناك تشديد مع البروتوزوا والفيروسات خاصة بالكشف عن احداثها للعدوى بسبب السمية القليلة المرتبطة بهذه الكائنات. يجب أن تتضمن البطارية الاولى اختبارات العدوى فى مزارع أنسجة الثدييات على هذه الوسائل. اختبارات ميكروسبوريديا البروتوزوا يجب أن تتضمن تعرض الجمجمة بسبب المرضية المعروفة للجهاز العصبى المركزى. بالاضافة الى ذلك فان البروتوزوا التى لا تتضاعف مع درجة حرارة جسم الثدييات يجب أن تحقن فى النسيج مع درجات حرارة منخفضة مثل الذيول أو أمشاط القدم بدلا من التعرض عن طريق الحقن البريتونى.

لقد قامت مجموعات مختلفة بتصميم بروتوكولات لاختبار الوسائل الحيوية بما يلقى الضوء على السمية للفقاريات. التوكسينات التى تنتج بواسطة هذه الكائنات يجب أن تعزل وتوصف وتعرف من حيث نظم احداث الفعل. بالاضافة الى ذلك فانه يجب تقييم تمثيل التوكسين بواسطة الفقاريات كما يجب اجراء اختبارات السمية الحادة والمزمنة كما هو متبع فى بروتوكولات المبيدات الكيميائية. تقييم التأثيرات على المدى الطويل على العائل يجب اجراؤها خاصة السرطانية والتشوهات الخلقية.

خلاصة القول أن تصميم دراسات امان الممرضات الحشرية فى الفقاريات يجب أن تتضمن اختبارات العدوى والسمية والحساسية والالتهابات. عدوى الفقاريات تبنى على تعريف وتوصيف الوسيلة وتحديد المدى العوائلى. الدراسات على النمو المعتمد على الحرارة والمعيشة والبقاء فى مزارع الانسجة والبقاء والتوزيع ومقدرة التضاعف فى الثدييات خلال الطرق المختلفة من التعرض (بما فيها الحيوانات ذات المناعة المنخفضة) يجب أن تجرى. التوكسينات التى تنتج بواسطة كائن دقيق يجب أن تقيم بناء على أساسيات تقييم أمان المبيدات الكيميائية. اختبارات الحساسية يجب أن تتضمن الاختبارات فى حيوانات التجارب واجراء ملاحظات على الناس الذين يتداولون الممرضات هذه لمعرفة الحساسية على المنتج الاولى والمستحضر خلال اختبارات الحساسية على الجلد والعيون فى حيوانات التجارب مع ملاحظة الأدميين الذين يتداولون المركب خلال التطوير.

(٢) مجاميع الممرضات Pathogen groups:

← (أ) البكتريا

لقد استخدمت كلا البكتريا المكونة للجراثيم Sporeforming وغير المكونة للجراثيم كممرضات الحشرات. البكتريا المكونة للجراثيم قد لاقت معظم الاهتمام كمبيدات حشرية ميكروبية. من هذه المجموعة الباسيلليس ثورينجينسيز والباسيلليس سفيريكس والتى درست واختبرت على نطاق واسع.

١ـ باسيلليس ثورينجينسيز

لقد استخدمت بكتريا BT بكثافة فى الزراعة والغابات وبرامج الصحة العامة لمكافحة افات حرشفية الاجنحة وبعض شبكية الاجنحة nematocerous من ثنائية الاجنحة. لقد أنتجت أصناف من BT بشكل تجارى وسجلت فى الولايات المتحدة الامريكية وأوربا الغربية ودول عديدة أخرى تستعمل المبيدات الحيوية. اختبارات الامان واستخدام هذه الكائن الدقيق يرجع الى الخمسينيات مع تطور الثوروسيد. الدراسات الابتدائية شملت اختبارات على متطوعى البشر مع التعرض عن طريق الفم والاستنشاق وكذلك عدوى الفئران بأنواع عديدة من BT فى محاولة لتعريف السلالات المرضية للفئران. الاختبارات اللاحقة تضمنت سلسلة من الدخول لجسم الفأر وملاحظة ثبات الممرض فى دم الفأر وكذلك الحقن البريتونى فى خنازير غينيا والسمية عن طريق الاستنشاق فى الفأر واحداث الالتهابات فى خنازير غينيا والسمية عن طريق الفم فى الجرذان. لم تظهر أى سمية أو مرضية من هذا الكائن فى أى من هذه الاختبارات. اختبارات الامان التى أجريت بواسطة مجاميع أخرى أظهرت عدم حدوث تأثيرات على الفراخ والدجاج البياض والخنازير الصغيرة والناضجة والطائر الذيال Pheasant والحجل Partridge.

لقد أجرى Hadley وأخرون (١٩٨٧) دراسة لمدة ٥ شهور عن السمية/العدوى عن طريق الفم للباسيلليس ثورينجينسيز فى الاغنام. لقد أجريت هذه الدراسة بسبب ما خلص اليه Morden and Herein من أن المبيدات الحشرية من الباسيلليس BT عندما غذيت فى الاغنام أحدثت التهاب رئوى والتهاب العضلة القلبية وأضرار فى الكبد. لم يتحصل الباحث Hadley وأخرون على أية تأثيرات سامة أو عدوى من BT تحت النوع كورستاكى على الاغنام. بسبب امكانية BT لتكوين طفرة نحو تكوين باسيلليس أنثراكس (التى تسبب مرض الجمرة الخبيثة antherax فى الحيوانات والانسان) فى القناه الجوفمعوية أجريت دراسة أخرى. اضافة لهذه الجزئية تم دراسة عزل الفاج

Phage من بكتريا BT القادرة على عدوى مزارع باسيلليس أنثراكس. اعتبارا لامكانية حدوث الطفرة والتضخيم فى الذيبيات تم اجراء دراسة أخرى مع طريقتين منفصلتين من التعرض. لقد تم تغذية الفئران المعاملة بالمضاد الحيوى على BT وبسيدوموناس أيروجينوزا وبعدها تم استئصال أمعاء الفأر وربطت ثم حقنت بمزرعة البكتريا. فى أى من الحالات لم يظهر ما يدل على حدوث طفرة وبعد ٢٤ ساعة كان مجموع BT ضئيل للغاية بينما P.aeruginosa انخفضت بشكل حاد.

استعراض الدراسات المرجعية يوضح ندرة التقارير حول المرضية على الذيبيات من جراء التعرض لبكتريا BT. الانتشار المعرض للديبيل (مستحضرBT فى معامل أبوت) فى عيون أحد المزارعين أدى الى حدوث قرحة فى القرنية والتى أنتجت BT تحت السلالة كورستاكى فى المزرعة. يوجد تقرير واحد يشير الى التهاب الثدى القاتل فى الابقار Mastitis من الباسيلليس ثورينجينسيز. أشار العديد من الباحثين عدم حدوث عدوى بكتيرية bacteremia من جراء وجود البكتريا فى أنسجة الفقاريات بعد العدوى بجرعات عالية من BT.

فى الخمسينيات ظهرت تقارير عديدة تشير الى ان بعض سلالات BT أنتجت أكسوتوكسين ثابت فى الحرارة. بعد ذلك مباشرة تم الكشف عن أربعة مركبات سامة فى مزارع البكتريا البللورية Crystalli ferous. هذه السموم شملت الفا- اكسوتوكسين، بيتا- اكسوتوكسين، دلتا- اندوتوكسين، وجاما- اكسوتوكسين. بسرعة تم افتراض أن الدلتا- اندوتوكسين والبيتا- اكسوتوكسين ذات أهمية فى تطوير لاحق لانواع من BT. أظهرت الدراسات أن المدى العريض للحشرات تأثر بالانواع التى تنتج الاكسوتوكسينات بينما الانواع التى تنتج الاندوتوكسين كانت متخصصة بشكل ملحوظ على الكائنات المستهدفة.

أ- دلتا- اندوتوكسين δ-Endotoxin: التأثيرات المرضية فى حشرات حرشفية الاجنحة وثنائية الاجنحة لمختلف الاصناف التجارية من BT ترجع فى جزء كبير منها الى الاندوتوكسينات التى تنتج خلال التجرثم Sporulation. هذه التوكسينات تسود فى الاجسام الباراجرثومية ومن ثم يجب أن يتم تناولها لكى تصبح نشطة. هناك العديد من العوامل الداخلية intrinsic والخارجية extrinsic تحكم حساسية نوع الحشرات لهذه التوكسينات. استراتيجيات ومعدلات التغذية ودرجة الحموضة وبيئة الانزيمات فى المعدة للكائن المستهدف وموقع ارتباط التوكسين من اكثر العوامل الداخلية أهمية والتى تؤثر على حساسية ومستوى الكفاءة على اليرقات.

لقد أجريت اختبارات مكثفة على منتج الاندوتوكسين وهوBT تحت النوع اسرائيلينسيز والمعروف بالباسيليس ثورينجينسيز (H- 14). لقد أظهرت الاختبارات المبكرة انها افة للانسان وغيره من الفقاريات. فى دراسات لاحقة استخدم هذا الكائن الدقيق كنموذج فى تطوير اختبارات التحدى الاقصى فى برنامج اختبار الامان على الثدييات. هذه الاختبارات تشمل حقن جرعات عالية من الكائن فى المخ intracranially وفى العيون intraocularily. لقد استخدمت كذلك الطرق التقليدية للتعرض كما فى التعرض عن طريق الفم وعن غير طريق المرى Parenteral (غير معوى) وعن طريق الجهاز التنفسى وكذلك الجلد. هذه الاختبارات وتفاوت التعرض بالاضافة الى اختبارات الحساسية واستخدام الحيوانات منخفضة المناعة واحداث الطفرات لم تظهر أن BT تحت النوع اسرائيلينسيز تحدث أية أضرار على الثدييات. الدراسات اللاحقة على الجرذان والفئران وخنازير غينيا والارانب أكدت على أن الثدييات ذات تحمل عالى للميكروب كما أنه يطرد بسرعة من الجسم ولا يتضاعف. لقد ثبت كذلك أمان هذا الكائن على البرمائيات amphibians. متطلبات التسجيل ونتائج الامان على الثدييات والاختبارات التى تجرى فى اليابان.

على عكس هذه الدراسات ظهرت تأثيرات ضارة injurious فى دراسات الامان التى تمت فيها المعاملة المباشرة للاندوتوكسين المذاب فى محلول منظم من هذا الكائن. لقد اتضح أن الكائن ذات سمية خلوية Cytotxic لخمسة خطوط خلايا مزروعة لخمسة أنواع من الثدييات وتسبب تحلل دموى فى كرات دم الثدييات. لقد أشار Armstrong وأخرون (١٩٨٥) الى قابلية الاندوتوكسين المذاب لتحليل Lyse كرات الدم الحمراء وقد اتضح انه قاتل للفئران عندما يحقن فى الغشاء البريتونى. أظهرت دراسة اخرى أن الحقن البريتونى فى الفئران أحدثت تأثيرات مماثلة لتلك التى يحدثها التوكسين العصبى العضلى neuromuscular toxin. لقد وجدت نفس مجموعة الباحثين أن حقن توكسين BT تحت النوع كورستاكى المذاب فى القلوى فى الفئران لم ينتج أية أعراض ضرر عصبية عضلية. لقد قام الباحثانKalmakoff and Pillai بعزل نوعين من البروتينات (بروتين A، B) من بللورات BT تحت النوع اسرائيلينسيز. لقد وجدوا أن البروتين (A) يقوم بالتحلل المائى لكرات دم الانسان والارانب hemolytic كما أظهر نشاط سمية عصبية neurotoxic activity عندما استخدمت العقلة العصبية البطنية السادسة فى الصرصور الامريكى.

لقد أجرى الباحثان Thomas and Ellar (١٩٨٣) دراسة لتوضيح اختلاف التأثيرات على الثدييات عندما تعطى بلورات الدلتا- اندوتوكسين الاصلية وتلك التى تعطى الاندوتوكسين المذاب للبكتريا BT تحت النوع اسرائيلينسيز. لم يلاحظ الباحثين أية تأثيرات سامة واضحة من جراء المعاملة بالاندوتوكسين الاصلى لكل فرد Per os تحت الجلد أو حقن فى الوريد فى الفئران ذات المناعة العادية BALB/c. على العكس أحدثت الدلتا- اندوتوكسين المذاب تغيرات خلوية Cytological وخلوية مرضية Cytopathic فى الفيبروبلاست فى الفئران وفى الخلايا الليمفاوية فى الخنازير وثلاثة أنواع فى الاورام السرطانية فى خلايا طلائية الفأر. بالاضافة الى ذلك حدث تحلل دموى فى الجرذان والفئران والاحصنة والانسان (فى كرات الدم الحمراء) كما أن الحقن الوريدى فى فئران BALB/c سببت شلل وموت سريع. لم يظهر بلورات الدلتا- اندوتوكسين المذابة أى تأثيرات سامة عندما أعطيت Per os. الاختبارات على BT من النوع كورستاكى فى صورة البللورات الاصلية وجدت غير سامة على الفئران كما لم تظهر أى مرضية خارج الجسم ولكنها عندما تم تناولها بواسطة الحشرات الحساسة كانت قاتلة وبسرعة مما يوضح حدوث تنشيط فى السم الاولىProtoxin activation فى معدة الحشرات القلوية.

ب- بيتا- اكسوتوكسين B-Exotoxin: بعض سلالات BT تنتج كذلك البيتا- اكسوتوكسين ذات الثبات الحرارى وهو أدينين نيوكلوتيد. المدى الواسع للنشاط ضد عدد من اللافقاريات مكن من استخدامه فى مكافحة الذباب المنزلى Musceid Flies وأنواع أخرى من الافات الحشرية. بسبب ثبات المركب استخدم فى العليقة خلال الطور اليرقى لمكافحة الذباب فى سباخ الابقار والدواجن. لسوء الحظ فان التأثيرات السامة للمركب غير متخصصة على الحشرات. من أكثر التأثيرات الضارة للممرضات الحشرية أو نواتج تمثيلها على الفقاريات تأكدت من العديد من الدراسات. اختبارات الامان التى أجريت مبكرا على البيتا- اكسوتوكسين أدت الى حدوث موت فى الفئران بعد الحقن البريتونى. لم يتم الكشف عن أية أضرار مرضية نسيجية فى المخ والكبد والنظام الليمفاوى ونخاع العظام. أظهرت دراسات أخرى حدوث نكرزة فى الكبد وأضرار فى الكلى والطحال. أظهرت الجرعات غير القاتلة عدم حدوث تأثيرات تراكمية. توصيف التوكسين بواسطة الباحث Sebesta وأخرون (١٩٩٦) أظهر أنه يسبب تثبيط فى تخليق الحامض النووى "رنا" RNA فى خارج جسم الفأر. لقد اقترح

أن النشاط الفسيولوجى للبيتا- اكسوتوكسين يرجع الى التنافس بين الاكسوتوكسين والادينوزين تراى فوسفات ATB ومن ثم يحدث نشاط طفرى خفيف.

أظهرت دراسات سمية أخرى أن الاختلافات فى الموت المرتبط بالجنس فى الفئران التى تم حقنها بالاكسوتوكسين ملحوظة وظاهرة. الاختبارات باستخدام ٦٠ فأر من كل جنس أظهرت أن الجرعات القاتلة النصفية LD5O تساوى ١٨٤,٨ بينما LDq5 تساوى ٢٩٠,٦ ميكروجرام/جم من وزن الجسم فى الذكور. لقد كانت القيم المقابلة فى الاناث تساوى ١٣٥,٦، ٢٦٦,٩ ميكروجرام/جم وزن الجسم على التوالى.

أظهرت دراسات التغذية بالبيتا- اكسوتوكسين نتائج متضاربة. مضافات الغذاء المحتوية على بيتا- اكسوتوكسين بكمية كافية لكى يمر خلال البراز فى كميات كافية كذلك تقتل الذبابة المنزلية وذبابة horn-fly (Haematobin-irritans) وذبابة الوجه Face fly (M.autumnalis) درست. لم تلاحظ أية سمية على الثدييات من اعطاء هذه المادة للدجاج والعصافير اليابانية والفئران والثور المخصى الصغير Steers. على العكس من ذلك أظهرت دراسات حديثة حدوث ضرر فى الدواجن بعد اعطائها البيتا- اكسوتوكسين. لقد شملت الاضرار تأكل فى القانصة gizzard والتهاب ومغص فى الامعاء enteritis والمعدة الحقيقية للطائر Proventriculitis وفقر الدم anemia وكذلك نزيف فى البشرة Pectechial hemorrhages فى المعدة ونكوص المبايض regressed ovaries. بالاضافة الى ذلك لاحظ الباحث Galichet (١٩٦٥) حدوث فقد فى الشهية anorexia ونقص فى وزن الخنازير المعاملة كذلك لاحظ الباحثان Ode and Matthysee (١٩٦٤) حدوث رفض من قبل الابقار للطعام المحتوى على البيتا- اكسوتوكسين.

٢ــ الباسيلليس سفيريكس B. Sphaericus

أظهرت العديد من عزلات الباسيلليس سفبريكس نشاط ابادى ضد يرقات البعوض وكانت الطرز السيرولوجية الاكثر فاعلية 5a, 5b and 25. ولو أن هذه البكتريا لم تنتج تجاريا بعد الا انها تستخدم تجريبيا فى أماكن عريضة من معيشة البعوض على مستوى العالم. فى عام١٩٨٠ بدأت دراسة مكثفة عن الامان لاختبار سلالة أوسلالات من هذا الكائن (SS 11-1, 1404-9, 1593-4). الانواع التى اختبرت شملت الفئران والجرذان والارانب. لقد تم حقن هذه الحيوانات تحت الجلد وفى الغشاء البريتونى وفى المخ والعيون. لقد كانت نتائج هذه الاختبارات مشجعة.

لقد أنتج الحقن تحت الجلد حالة واحدة من خـراج موضعى Local abscess ولكنه لم يكن محتويا على الباسيلليس سفيريكس. الحقن البريتونى وفى المخ فى الارانب وحقن المخ فى الجرذان لم ينتج أية أضرار نسيجية معنوية. الجرذان التى عوملت بأعداد كبيرة من البكتريا حقنا فى المخ طورت التهاب السحايا بشكل معتدل Mild meningitis مع صفد وعائى كما ينتج البكتريا على المزرعة. حقن عيون الارانب intraocular بالبكتريا أنتجت Opthalmitis متوسطة وحتى Panopthalmitis وهى تكون أكثر شدة وخطورة فى الحيوانات التى تناولت أو عوملت بكائنات حية نشيطة ولو أن المادة المعقمة فى الاوتوكلاف أنتجت أضرار كذلك. الدراسات التى صممت لاختبار تضاعف البكتريا فى مخ الجرذان أظهرت أن عدد الجراثيم ينخفض بالتدريج حتى ١٤ يوم حيث تنتج الامخاخ مزارع سالبة من الباسيلليس سفيريكس. أظهرت دراسات السمية الحادة والمزمنة على الجرذان والفئران وخنزير غينيا مع المعاملات عن طريق الفم والحقن تحت الجلد وفى الغشاء البريتونى وفى المخ عن طريق الاستنشاق ومن خلال التعرض الجلدى عدم حدوث أية تأثيرات وكذلك مع الفحص بعد الوفاة Postmortem.

الدراسات الحديثة التى استخدمت فيها الفئران التى عوملت بالجراثيم الحية للطرز السيرولوجية 5a، 5b والسلالة 2362 عن طريق الحقن تحت الجلد وفى الغشاء البريتونى وفى الوريد مع تعرض اضافى عن طريق الفم والجلد والاستنشاق لم تظهر أية أضرار مرضية مع الفحص بعد الوفاة. لقد أظهرت دراسات اخرى أمان هذه البكتريا على الاربيان Cray fish (Arthropoda/Decapoda) والسمك أكل اليرقات Larvivorous fish وفرخ الضفدع Tadpoles ولو أن بعض البحاث أشاروا الى سمية هذه البكتريا على ضفادع الرانا مع التركيزات العالية.

توجد تقارير نادرة عن الفعل غير الابادى على الحشرات للباسيلليس سفيريكس تعدى الانسان. لقد أشار الباحثان Allen and Wilkinson (١٩٦٩) الى حالة واحدة من الالتهاب السحائى وعمومية تفاعل Schwartzman فى انسان عجوز بعمر ٦٤ عاما. لقد تم زراعة الباسيلليس سفيريكس فى الدم والسائل الشوكى وسائل الغشاء العنكبوتى البطينى فى الدماغ Subarachnoid. لقد فشل حقن الارانب فى الوريد وفى البريتون بهذه العزلة فى انتاج عدوى أو أية أضرار. لقد استعرض Farrar (١٩٦٣) ١٢ عدوى فى الانسان بالبكتريا غير الممرضة من الجنس باسيلليس. معظم هذه العدوى أثرت على الجهاز العصبى المركزى مع مسلك مباشر بوابى لدخول أغشية الدماغ

Meningea أو تجرثم الدم الثابت Persistent bacteremia الذى يسبق عدوى الالتهاب السحائى فى الدماغ. لقد أشار أحد الباحثين الى عزل الباسيلليس سفيريكس من ورم كاذب فى الرئة Pseudotumor.

٣- البكتريا التى لا تكون جراثيم Nonspore forming bacteria

يوجد نوعان من البكتريا التى لا تكون جراثيم تعتبران كمبيدات حشرية ميكروبية. لسوء الحظ فان هذه الوسائل الميكروبية معروف عنها أنها ممرضة للحيوانات والانسان.

أ- **بسيدوموناس أريجينوزا** Pesudomonas a-ruginosa: هذا الكائن أو الميكروب مرتبط بالعدوى المتقطعة Sporadic للنباتات والحيوانات والانسان وكذلك الحشرات. العدوى فى الحيوانات والانسان ترتبط عادة بالغزو الثانوى بواسطة هذا الكائن بعد ظروف الضعف والوهن debilitating ولو أنه قد يكون كممرض أولى فى بعض الاحيان. توجد تقارير تشير الى عدوى كل الحيوانات الاليفة والمعملية كما حدثت اصابات وبائية شديدة epizootics.

ب- **سيراتيا مارسيسنس** Serratia marcescens: السيراتيا على غرار بسيدوموناس تعتبر من الكائنات السائدة النهازة للفرص أو ذات المناسبات Opportunistic. الميكروب شائع فى الزواحف ولو أنه توجد تقارير عديدة تشير الى احداثه عدوى فى الانسان. (Heimpe، ١٩٧١، Jacobson، ١٩٨٤).

← **(ب) الفيروسات** Viruses

الفيروسات الممرضة للحشرات تقسم فى العادة لغرض المناقشة الى: ١ــالفيروسات المغروسة Occluded فى أجسام البروتين البارابللورية من ٠,٥ الى ٢٠ ميكرومتر فى القطر ٢- الفيروسات غير المغروسة. الاجسام المغروسة تحمى الفيريونات من الظروف المعاكسة البيئية. الفيروسات التى تحتوى على فيريونات مغروسة تتضمن Baculoviridae (ولو أن فرد من هذه المجموعة غير مغروسة) و Poxviridae و Reoviridae. الفيروسات من عائلات Iridoviridae، Rhabtoviridae، Picornaviradae ، Parvovirus غير مغموسة.

١- **Baculoviridae**: يقسم الباكولوفيريدى الى تحت مجاميع ثلاثة: ١- فيروسات البولى هيدروزيس النووية (NPV) ٢- الفيروسات المحببة granulosis (GV) ، ٣- مجموعة صغيرة من الفيروسات غير المغموسة بشكل القضيب rod- shaped. هذه

العائلة من الفيروسات تطورت بشكل واسع وأختبرت واستخدمت فى المكافحة الحيوية للافات وحديثا كفيروسات مندمجة لانتاج هذه المنتجات المتنوعة مثل انترليوكسين-٢ الادمى، بروتين C- myc الأدمى وانترليوكسين الفئران.

أ- **فيروسات البوليهيدروزيس النوية:** الفيروسات هذه NPV's من أكثر الفيروسات التى درست باستفاضة من بين جميع الفيروسات الممرضة للحشرات. لقد اتضح انها مناسبة بشكل خاص للمكافحة الحيوية للافات بسبب التخصص العوائلى لها (بداية وأولويا حرشفية الاجنحة Lepidoptera) وكذلك أنواع الفيروسات المتخصصة داخل هذه المجموعة والدرجة العالية من العنفوانية وحقيقة أن الفيروس محمى جيدا أو نسبيا من عناصر البروتين الموجودة فيه Occlusion protein. فى الستينيات تعرض فيروس دودة كيزان الذرة H.zea NPV لاختبارات مكثفة كتلك المطلوبة مع الكيميائيات بواسطة وكالة حماية البيئة الامريكية EPA فى الولايات المتحدة الامريكية. تضمنت هذه الاختبارات دراسات السرطانية والتشوهات الخلقية على المدى الطويل. لم يكن الفيروس NPV's قادرا على التضاعف أو يحدث تأثيرات مرضية على الكائنات الدقيقة أو على خطوط الخلايا للافقاريات غير الحشرية ولا على خطوط خلايا الفقاريات ولا على الفقاريات أو النباتات أو اللافقاريات من غير مفصليات الارجل. لقد أجريت تجارب على جرعات١٠- ١٠٠ مرة مثل متوسط معدل الحقل لكل أكر (٤٠٥ و هكتار) والتى حولت لنسبة وزن حيوان الاختبار لوزن الانسان ٧٠ كيلو جرام. طرق التعرض اشتملت على الدخول عن طريق الفم والاستنشاق والتعرض الجلدى والحقن فى الجلد وفى العضلات والمخ وفى الوريد وفى الغشاء البريتونى وتحت الجلد. تعرض الفقاريات كان يشمل حيوانات (الى جانب الانسان والاوليات الاخرى) الجرذان والفئران وخنازير غينيا والارانب والعصافير والدواجن وعصفور المنازل (Passer domesticus) والبط والغزلان والجرذان ناقصى المناعة وغيرها من أنواع الاسماك.

لقد أشار الباحثان Wells and Heimpe (١٩٧٠) عدوى الفيروس فى البكتريا. لقد أدت نتائج هذه الدراسة الى الاقتراح بأنه تحت ظروف معينة فان الفيروس Baculovirus قد يعدى ويتضاعف فى خلايا الكائنات الاخرى. لقد دعى ذلك الوضع الى الحاجة الى استكشاف لاحق. لقد اظهرت اختبارات الباحث Deller (١٩٧٨-١٩٨٢) انتاج جسم مضاد متخصص ضعيف للفيروس بعد الحقن فى الوريد للفيريونات فى الفئران. اليرقات التى تغذت على الاحشاء من هذه الحيوانات المعدية

لم تظهر أى نشاط فيروسى. التغذية عن طريق الفم للفيروس NPV للأوز لم تظهرأى دليل عن تضاعف الفيروس بشكل غير واضح. الاختبارات على خطوط خلايا الفقاريات التى أجريت بواسطة الباحثان McIntosh and Shamy (١٩٨٠) أظهرت فى تجربتان من خمسة حدوث تضاعف بعد عدوى خلايا الهامستر الصينى (CHO) ولو أن CHO نمت روتينيا على درجة ٣٥°م (ولو أن خطوط خلايا الحشرة نمت على درجات حرارة منخضة ٢٨- ٣٠°م). عندما تم تحضين مزارع CHO على درجة حرارة منخفضة ٢٨°م لم يحدث تضاعف فى الخلايا. لم يتمكن الباحث Tjia وأخرون (١٩٨٢) من الحصول على جعل NPV يتضاعف فى مختلف خطوط الخلايا فى الثدييات.

لقد أظهرت الدراسات الحديثة فى الثمانينات التى أجريت بواسطة العديد من الباحثين عدم حدوث تضاعف فى الدواجن وسلمون قوس قزح والجمبرى كما لم تزداد معدلات تبادل الكروماتيدات الاخوية أو تشوه فى كروموسومات الهامستر الصينية أو الفئران التى تعرضت عن طريق الفم أو الحقن فى الغشاء البريتونى. سيرولوجية الانسان والاحصنة والبقر والخنازير والاغنام التى أجريت بواسطة مجموعات مختلفة أظهرت استجابة الجسم المضاد لبروتينات الباكولو فيروسات. لم يتأكد ما اذا كان ذلك يرجع الى التعرض لانتيجين الفيروس أو الانتيجين المتفاعل عبوريا والذى يتوزع بشكل عريض فى البيئة. لقد أجرى Carbonell وأخرون (١٩٨٥) لاختبار متميز للوقوف على نواحى الامان التى صممت باكولوفيروس مندمج مع اختبار مقدرتها على الدخول والتعبير عن الحمض النووى "رنا" RNA الفيروسى فى خلايا الثدييات التى تعتبر انعكاس لتضاعف الفيروس. أظهرت النتائج أن DNA الفيروس غير قادرة على الدخول بكفاءة فى أنوية خلايا الثدييات. لقد أمكن استنتاج يؤيد الاعتقاد بأن هذه الفيروسات فيها مستوى أصلى وأصيل من الامان على أنواع الثدييات.

ب ـ الفيروسات المحببة Granulosis Viruses: الفيروسات المحببة عالمية التوزيع وتميل الى تخصصية الجنس genus specific. على عكس NPV فان جسم اختبارات الامان تكون اصغر فى الفيروسات المحببة GV. لقد قام الباحث Bailey وأخرون (١٩٨٢) باجراء اختبارات تضمنت فحص الثدييات الصغيرة الممرضة لرش GV. لقد وجدت مستويات محسوسة من الجسم المضاد فى هذه الحيوانات. لقد قام بعض الباحثين بجمع عينات البراز يوميا على امتداد ٣ أسابيع بعد تعرض

الفئران للفيروس. لقد تم الكشف عن الفيروسات النشطة حيويا على امتداد انتاج الجسم المضاد ومع هدا فانه بعد ٨٠ يوم من التغذية لم يتم الكشف عن أجسام مضادة متخصصة للفيروس بواسطة التحليل الاشعاعى للمناعة. الاختبارات على النقل الرأسى لفيروس تتضمن العدوى عن طريق الفم فى الفئران قبل وبعد الاخصاب. لقد وجدت السيرم من الصغار خالية من الاجسام المضادة للفيروس. لقد استنتج الباحثين من الاختبارات ان النقل الفيروسى لا يحدث فى الحيوانات المختبرة بعد التعرض لجرعات فردية من GV وأن انتاج مستويات الجسم المضاد تحدث فقط بعد التعرض لجرعات عالية من الفيروس.

دراسات أخرى عن الامان على GV أظهرت مرة أخرى نقص فى العدوى. الفئران وخنازير غينيا التى تعرضت فرادى من خلال الاستنشاق والحقن وملامسة الجلد والعيون لم تظهر أية تأثيرات معاكسة. عندما حقن GV فى Estigmene acraea لم يحدث ضرر على صحة الفئران وخنازير غينيا. أظهرت تجارب لاحقة عن المناعة مع مختلف طرق التعرض باستخدام الكبسولات او الفيريونات المعزولة فى الفئران وخنازير غينيا والارانب عدم حدوث تأثيرات مرضية. لم تظهر أية تأثيرات خلوية مرضية أو أضرار على النمو من جراء المعاملة بالفيروسات GV على أجنة الطيور. لقد تحصل على نتائج مشابهه لتلك التى تحصل عليها مع NPV فيما يتعلق بتبادل الكروماتيدات الاخوية والتشوهات الكروموسومية. بالاضافة الى ذلك فان سيرولوجية الانسان والاحصنة والابقار والاغنام والنعام أظهرت تفاعلات موجبة لبروتينات الفيروسات GV كما حدثت مع بروتينات NPV.

خلاصة القول أنه لم يتم الكشف عن الباكولوفيروسات فى الثدييات والطيور والاسماك ولو أنه تم الكشف عن الفيروس النشط بيولوجيا لفترات قصيرة مع أخذ عينات البراز من العديد من الانواع. لقد أوضح ذلك أن الطيور قد تكون قادرة على نشر الفيروس فى الطبيعة وعلى المحاصيل. الدراسات التى صممت للكشف عن تشوهات الكروموسومات وتبادل الكروماتيدات الاخوية أعطت نتائج سالبة. الاجسام المضادة للباكولوفيروس تم الكشف عنها فى الانسان وسيرم الحيوان وظهرت تفاعلات موجبة تعتمد أساسا على التركيز النسبى لجلوبيولينات المناعة فقط. بناء على هذه النتائج خلص بعض الباحثين الى صعوبة اتخاذ قرار ما اذا كان هناك خطورة واقعية من هذه الفيروسات.

٢- **بوكس فيريدى** Poxviridae: هذه العائلة تشمل مدى عريض من الاجناس بما فيها تلك التى تؤثر على الثدييات وهى Leporipoxvirus ، Avipoxvirus ، Parapoxvirus ، Orthopoxvirus ، Capripoxvirus ، Suipoxvirus وتلك التى تؤثر على الحشرات مثل Entomopoxvirus (EPV) مع تحت الجنس (Coleaptera EPV) A وتحت الجنس EPV) B لحرشفية ومتساوية الاجنحة) وتحت الجنس (EPV لثنائية الاجنحة). لم يوجد أنشطة سيرولوجية عبورية مع تحت الاجناس A ، B مع فيروسات اللقاحات Vaccinia (مثل فاكسين فيروس لقاح الجدرى فى الانسان Smallpox) كما أن النشاط غير الوراثى لم يثبت. الفيروس EPV لحشرات غمدية الاجنحة تعرضت لاختبارات على المستوى الصغير خارج المبانى فى فرنسا وحققت نجاحات محدودة. بعض أنواع حرشفيات الاجنحة حساسة لفيروس الحشرات من تحت الجنس B. لقد أجريت تجارب حقلية فى كندا فى بداية السبعينات مع نجاحات متوسطة. لقد أجريت دراسات محدودة على فيروسات ثنائية الاجنحة ولكن لم يشار الى اجراء تجارب حقلية.

اختبارات الأمان على الفيروسات الحشرية Entomopoxviruses شملت الحقن فى المخ والغشاء البريتونى فى الفئران الرضيعة والتعرض عن طريق الفم فى الفئران والحقن البريتونى وفى التعرض فى الانف للفئران بعمر ١٠ أسابيع وتعرض الفئران المعملية والثدييات البرية فى الاقفاص لتركيزات عالية من الفيروسات التى تستخدم حقليا. نتائج هذه الاختبارات لم تظهر أية تأثيرات مرضية أو أضرار مرضية فى هذه الحيوانات. الاختبارات خارج الجسم شملت أجنة الطيور وخطوط خلايا الفقاريات أظهرت نقص فى تضاعف الفيروس أو التأثيرات الخلوية المرضية.

٣- **اريدوفيريدى** Iridoviridae: الاريدوفيروسات تعرف بالفيروسات متقزحة اللون iridescent والتى تعدى ٥٠ نوع من الحشرات وتسبب أمراض متنوعة فى الفقاريات مثل حمى النعام الافريقية ومرض الخلايا الليمفاوية Lymphocystis فى السمك وفيروس الجيكو gecko virus وفيروس الضفدع. أظهرت اختبارات الامان على الفقاريات بعض المشاكل مع الفيروسات متقزحة الالوان. الحقن البريتونى للجرعات الكبيرة من فيروسات متقزحة الالوان فى نوعين من مفصليات الارجل أظهر سمية قاتلة على الضفدع الشرقى "رنا ليمفوشا- ريس" بدون تضاعف الفيروس. أدت الاختبارات اللاحقة التى استخدمت فيها الفئران الى موت فورى بعد

الحقن البريتونى للفيروسات غير المعاملة. لم يظهر الحقن بالفيروس غير المنشط بالحرارة أية تأثيرات معاكسة. أشار بعض البحاث الى أن السيرم من عمال المعامل تفاعلت مع الفيروس متقزح اللون من الانواع ١-٤. محاولات تنمية فيروسات متقزحة الالوان فى مزارع أنسجة الفقاريات أعطت نتائج سالبة. هذه الفيروسات ليست محل تطوير فى الوقت الراهن فى مكافحة الافات الزراعية وافات الغابات.

٤- **فيروسات البارفوفيريدى Parvoviridae**: هذه العائلة تحتوى على ثلاث أجناس. تشمل هذه العائلة بارفوفيروس، دينوفيروس (تعرف دينونيوكليوزيس) ومجموعة الفيروسات المرتبطة بالادينو Adeno. ما يقرب من ٢٠ فيروس من Parvoviridae وأجناس الفيروس المرتبطة بالادينو تعدى الثدييات بينما أربعة فيروسات دينونيوكليوزيس ذات اهتمام خاص بسبب تشابهها مع البارفوفيريدى والتى تعدى الفقاريات. البارفوفيروسات الاخاصة بالثدييات تعدى مجموعة منها تشمل الانسان وتنتج أمراض متنوعة مثل بلعمة كريات الدم القلينية Feline Panleukopenia، الالتهاب المعوى Mink enteritis، والتهاب الامعاء Canine Parvovirus enteritis، فيروس كليهام فى الجرذان Kilham والتهاب المعدة المعدى فى الانسان infectious gastroentervitis. اختبارات الامان على فيروس دينو نيوكليوزيس فى بعوض الايبدس ايجيبتى لم تظهر أية تأثيرات مرضية على الجرذان والفئران ولا أجنة الفراخ. فيروس دينونيوكليوزيس لدودة الشمع جالاريا ميللونيلا يتحول وينتج انتيجينات فيروسية فى خلايا الفقاريات. لقد أجرى الباحث Giran (١٩٦٦) اختبارات امان على هذا الفيروس على الفئران البالغة وحديثى الولادة والارانب باستخدام الحقن الوريدى وتحت الجلد والحقن فى المخ ولم يستطيع اثبات حدوث العدوى أو أية أضرار مرضية. لقد قام الباحثان Tinsley and Harrap (١٩٧٥) بجمع عينات السيرم من عمال المعامل ووجدوا ٨ من بين ٢٣ عامل تفاعلت مع واحد أو أكثر من انتيجينات فيروس دينونيوكليوزيس. عنفوانية هذه الفيروسات أثارت الاهتمام بامكانية استخدامها فى مكافحة الافات الحشرية ولكن احتمالات حدوث مشاكل تتعلق بعدوى الفقاريات تستدعى الحذر والحيطة والاهتمام أيضا.

٥- **ريوفيريدى Reoviridae**: الريوفيريدى تشمل الاجناس التالية: الريوفيروس والروتافيروس التى تعدى الفقاريات وأنواع أوبيفيروس التى تعدى كلا مفصليات الارجل والفقاريات وكذلك فيروسات بوليهيدروزيس السيتوبلازمية التى تعدى

مفصليات الارجل فقط. فى الفقاريات يسبب الريوفيروسات عدوى فى الجهاز التنفسى فى الانسان والتهابات فى شعب القصبة الهوائية Tracbeobronchitis فى الكلاب والالتهابات الكبدية الدماغية hepatoencephalitis فى الفئران ومرض التهاب المفاصل arthritis فى الدواجن. الروتافيروسات تسبب التهاب الامعاء enteritis فى الانسان والحيوانات بينما الاوربيفيروسات Oribiviruses تسبب مرض الحصان الافريقى.

من بين الجنسين الذين يصيبا الحشرات فان فيروسات البولى هيدروزيس السيتوبلازمية استحوذت على اهتمام الباحثين بسبب تخصصها على مفصليات الارجل وتأثيراتها المسببة للوهن والضعف debilitative والقاتل على عوائلها. الاوربيفيروسات تتضاعف فى مفصليات الارجل بدون أية تأثيرات ضارة. لقد قام الباحث Ignoffo (١٩٧٣) بتعريض فيروسات البوليهيدروزيس السيتوبلازمية لعديد من أنواع الفقاريات من حلال طرق عديدة للمعاملة ولم يتحصل على أية تأثيرات مرضية. لم يحدث أى تضاعف أو تأثيرات خلوية مرضية من هذا الفيروس فى الثدييات أو الاسماك أو فى الخطوط الخلوية للطيور. لقد أشار Aizawa (١٩٧٦) الى أن تعرض الفئران والارانب والهامستر للأجسام الضمينة Occlusion bodies سواء عن طريق الفم أو بالحقن لم يسفر عن أية تأثيرات معاكسة أو تضاعف للفيروس. لقد اقترح Arata واخرون (١٩٧٨) ضرورة اجراء اختبارات مكثفة عن أمان هذه المجموعة من الفيروسات بسبب أن تكرارية الدمج الوراثى فى الروفيريدى المعدى للفقاريات أوضح أن هذه المجموعة من الفيروسات قد لا تكون ثابتة من الناحية الوراثية.

٦- **الرابدوفيريدى** Rhabdoviridae: أجناس هذه العائلة تشمل Vesiculovirus , Lyssavirus . sigmavirus ومجموعة رابدوفيروسات النباتية تسبب أمراض فى كلا الفقاريات والحشرات. من أمثلة الامراض التى تصيب الثدييات التهاب المعدة الوعائى (Vesicular stomatitis) فى الأحصنة والخنازير والأبقار وحمى سريعة الزوال ephemeral Fever فى الابقار والنزف الفيروسى لتعفن الدم Viral hemorrhagic Septicemia فى السلمون. الجنس Lyssavirus تعدى كذلك كلا الفقاريات والحشرات. فى الثدييات تسبب داء القلب rabies وفيروس موكولا Mokola Virus وفيروس لاجوس فى الخفافيش Lagos bat virus وفيروس الذبابة

النيجيرية Shrew virus وفيروس كاتونكان Katonkan. فيروس ستجما Stgma هو فيروس متحول متجانس فى الدوروسوفيللا. فيروسات الرابدوفيروسات تتضاعف فى أنواع عديدة من الحشرات والنباتات. لم تختبر هذه الفيروسات من منظور الامان واعتبرت مؤذية بشكل غير كافى على الحشرات للدرجة التى يمكن أن تعتبر ضمن وسائل المكافحة الميكروبية.

٧- **بيكورنافيريدى** Picornaviridae: البيكورنافيريدى تشمل أجناس Apthovirus ، Enterovirus ، Rhinovirus. الجنس انتيروفيروسات يسبب الشلل Polio فى الانسان والنعام والفئران والالتهاب الدماغى encephalomylitis فى الطيور وفيروس كوكساكى Coxsackie فى الانسان وشلل النحل Paralysis وفيروس نودا مورا فى الحشرات. الاجناس رينوفيروس والافثوفيروس تشمل أمراض الكبد فى الثدييات (التهاب الكبد الوبائى A) ومرض القدم والفم والابقار والخنازير) وكذلك فيروسات البرد فى الانسان. فيروس النودامورا يتضاعف فى البعوض دون أن يسبب أعراض مرضية أو يقتل النحل والديدان والفئران. فى المملكة المتحدة تم الكشف عن أجسام مضادة Ig M فى الثدييات مع فيروس الشلل جينوميتا genometa paralysis. بسبب المرضية على الفقاريات فان احدا من هذه الفيروسات ليست محل تطور فى الوقت الراهن.

← (ج) **الفطريات** Fungi

من المعروف الآن أن ما يقرب من ٥٠٠ نوع من الفطريات تحدث العدوى فى الحشرات. بعض هذه الانواع تكون معدية لمدى عريض من الكائنات غير المستهدفة NTO's بينما البعض الاخر أكثر تخصصية عائلية. العديد يمكن زراعته على بيئة صناعية وقد تم فحص البيئة مع البعض للوقوف على سميتها على الحشرات كما تم معرفة المركب الفعال الاساسى. الفطريات التى تنتمى الى جنس أو أجناس Beauvaria، Metarhizium و Culicinomyces، Entomophthora، Nomurea، Aspergillus، Paecilomyces، Tolypocladium، Leptolegnia، Coelomomyces، Lagenidium وغيرها وقد استخدمت أو محل اعتبار كى تستخدم كمبيدات حشرية ميكروبية. فى هذا المقام سوف نناقش بعض الاجناس التى تعرضت لبعض اختبارات الامان وهى:

١- **البوفاريا Beauveria**: هذه الفطريات عزلت فى الغالب من الحشرات المريضة واستخدمت كثيرا فى اختبارات المكافحة الميكروبية. هذه الفطريات تنتج مركبات سامة والتى تؤذى عوائلها بعد الغزو. لقد أجريت تجارب الامان دوما على البوفاريا باسيانا. الحقن تحت الجلد وفى الوريد فى الجرذان لم ينتج أية أضرار كما أن أنسجة الرئة فى الفئران التى عرضت لجراثيم الفطر B.bassiana لمدة ٩٠ يوم كانت سالبة عندما حقنت فى البيئة المغذية للاجار. على العكس من ذلك فان التعرض عن طريق الاستنشاق فى الفئران والجرذان وخنازير غينيا للجراثيم سببت ظهور أعراض مرضية Symptomology. فى سلاسل اخرى من الدراسات فان تعرض الجرذان لجرعات عالية عن طريق الفم لمدة ٢١ يوم للجراثيم والميسيليوم أدت الى حدوث ثلاثة حالات من الوفيات فى عشرة حيوانات. لقد أحست بعض المجاميع بوجود تفاعلات معاكسة واعتقدوا أنها قد ترجع الى الطبيعة الخاصة للمستحضرات أو لأسباب أخرى لا ترتبط بالبوفاريا باسيانا. من الاختبارات الاخرى عن أمان هذا الفطر تشمل التجريع الفمى للضفادع بالجراثيم. لم تنتج أية أضرار مرضية أو عدوى فى الاحشاء بواسطة البوفاريباباسيانا. أظهرت تقارير أخرى أن البوفاريا غير قادرة على النمو على درجة حرارة جسم الثدييات ٣٧°م.

توجد تقارير تشير الى التأثيرات المرضية على الحيوانات والانسان بواسطة البوفاريا. لقد أشار Muller- Kogler (١٩٨٧) الى تفاعلات متوسطة وحتى الشديدة خاصة بالحساسية أو الالتهابات لتحفيزات الجراثيم كما ظهر فى العديد من الدراسات على البوفاريا. لقد أشار باحثين اخرين الى عدم حدوث تأثيرات ضارة معاكسة على الانسان من جراء التداول المتكرر للبوفاريا باسيانا. بسبب أن التقارير العديدة أشارت الى حدوث التهاب فى القرنية Keratitis قام Ishibashi واخرون (١٩٨٧) باجراء سلاسل من الاختبارات لمقارنة مرضية وأضرار القرنية من جراء التعرض للبوفاريا باسيانا وفطر كانديدا البيكانس. لقد أظهرت الفحوص الهستوباثولوجية حدوث مرضية ضعيفة بواسطة البوفاريباباسيانا على القرنية بينما لم يحدث غزو للحجرة الداخلية. بالاضافة الى ذلك أشار Ignoffo (١٩٧٣) الى وجود دليل غير مباشر عن امكانية حدوث سمية ومرضية وحساسية فى الانسان كما أمكن عزل أنواع من البوفاريا من أنسجة الفقاريات. لقد اتضح ان البوفاريا باسيانا تسبب الفطار الرئوىPulmonary mycosis فى السلحفاة الارضية العملاقة. لقد أمكن عزل B.shiotae من خراج فى القناة الصفراوية فى الانسان.

٢- **الفطر** Metarhizium: التأثيرات المرضية لهذا الكائن الدقيق تشمل احداث خلل فى الميتوكوندريا وخشونة فى الشبكة الاندوبلازمية. لقد تضمنت اختبارات الامان تجريع الضفادع عن طريق الفم للفطر M.anisopliae وكذلك تعريض الجرذان لمدة ٩٠ يوم عن طريق الفم وتحت الجلد والاستنشاق وفى الوريد دون أن تحدث أية تأثيرات معاكسة. الاستنشاق والحقن الوريدى وتحت الجلد والتنقيط فى العيون للفئران والجرذان والارانب أنتجت ورم حبيبى granulomas فى مواضع الحقن وحدث استرجاع للفطر من الطحال بعد ١٨ يوم من الحقن ولكن بدون انتاج مواضع ضرر. التعرض للجراثيم الجافة (غبار) أدت الى استرجاع جراثيم الفطر بعد اسبوعان من التعرض دون مظاهر ضرر. لم تنتج تأثيرات معاكسة من التعرض عن طريق الفم أو التنقيط فى العيون كما لم يثبت حدوث تضاعف فى أنسجة الثدييات. أشار العديد من الباحثين الى عدم حدوث تأثيرات ضارة على متداولى مزارع الفطر M.anisopliae.

٣- **الفطريات** Culicinomyces: المدى العوائلى للجنس Culicinomyces ربما يكون محدودا على البعوض وغيرها من يرقات ثنائية الاجنحة المائية. بسبب أن هذا الكائن له مدى عوائلى واسع على البعوض فانه مبشر من ناحية امكانية انتاج مادة أو وسيلة مكافحة ميكروبية. اختبارات الامان تضمنت التجريع الفمى Oral dosing للفئران والجرذان وخنازير غينيا والاغنام والابقار دون حدوث أية تأثيرات معاكسة. كذلك عوملت مجموعة أخرى عن طريق الفم شملت الجرذان والفئران وخنازير غينيا والابقار والاغنام ونوعان من البط البرى بمعلقات الفطر. لقد كانت هذه المعلقات مرضية ليرقات البعوض ولكنها لم تظهر أية تأثيرات صحية على حيوانات الاختبار. لقد تم استكشاف قيم معايير الدم Hematological والنواحى البيوكيميائية ولم تظهر أية تغيرات عن الحالات العادية. لم يظهر تشريح الجثة Necropsy أية علامات عن التجرثم sporulation أو غزو الانسجة. لقد أجريت اختبارات السيرولوجية على المختبرات والأغنام وتسعة آدميين (اثنان يعملان فى المعامل على هذا الفطر) وثلاثين من الاغنام من جنوب ويلز. لقد أنتجت المجترات والاغنام عيارات من كونيديا Culicinomyces من ٢٠ الى ٨٠. لقد وجدت عيارات أقل من عشرة فى البط والانسان. العيارات فى الحيوانات المعاملة لم تكن أعلى من المقارنة. لقد أدت هذه النتائج الى اقتراح أن الكائن أو أى واحد يرتبط به انتيجينيا قد يكون

شائع فى البيئة. فشل ارتفاع مستويات الحد الحرج للجسم المضاد بعد التجريع توضح نقص فى العدوى.

لقد طور الباحث Mulley وأخرون اختبارات أمان اضافية على هذا الفطر. لقد كان مفهوم هذه المجموعة من الباحثين أن الفطر يغزو جروح الجلد ويحفز استجابات الحساسية فى الحيوانات التى تتعرض بشكل مزمن. الحقن السطحى للجلد والحقن تحت الجلد للفطر أجرى على الفئران والاحصنة العادية وتلك التى تعانى من نقص المناعة. لقد تم التجريع الفمى والحقن تحت الجلدى لنوعان من السلاحف الاسترالية المتوطنة Lizard وسلحفاة المياه العذبة (نوع واحد) ونوع واحد من الضفادع. النتائج فى الثدييات اشتملت على تفاعلات التهابات موضعية انتقالية فى مواضع الحقن مع عدم قدرة على زراعة الكائنات الدقيقة هذه. لقد نتجت أورام حبيبية فى السلاحف الارضية وسلاحف المياه والضفادع عند مواضع الحقن وتم عزل الفطر. لم يوجد أى دليل على حدوث الانتشار الجهازى. لقد خلص البحاث الى ان الى أن Culicinomyces ليست مرضية على الثدييات ويعضد هذا القول عدم مقدرتها على النمو فوق٣٠°م وعدم ثبوت حدوث عدوى فى الحيوانات البرية والأليفة.

٤- **الفطر** Lagenidium giganteum: لقد اكتملت اختبارات الامان على الثدييات وغير الثدييات على هذا الكائن. تعرض الاسماك والبط والعصافير البيضاء (كولينس فيرجينيانس) لم يؤدى الى تأثيرات مرضية. لقد تم تعريض ثدييات مختلفة عن طريق القصبات الهوائية والتناول الفمى والحقن البريتونى والمعاملة الجلدية وعن طريق التنقيط فى الاعين ولم تحدث أية تأثيرات معاكسة. لقد خلص الباحثين الى أن هذا الكائن امن بسبب محدودية تحمله للحرارة حيث لاينمو ولا يتكاثر فوق٣٢°م. لا يوجد أى دليل على انتاج توكسينات بواسطة هذا الفطر.

٥- **فطريات أخرى** Other Fungi: الفطريات Entomophthora تحدث عدوى فى حشرات حرشفية وثنائية الاجنحة. أجريت اختبارات امان قليلة حيث تم تجريع الضفادع عن طريق الفم E.virulenta بينما أعطيت العصافير اليابانية معلق E.ignobilis. لقد تم تطعيم كائن من هذا الجنس هو كونيديوبولس كوروناتس حيث أشارت تقارير عديدة الى نقص الامان على الانسان والاحصنة. أجريت اختبارات أمان على Paecilomyces فى الضفادع والفئران ولم تظهر أية أعراض مرضية أو عدوى فى الاحشاء من هذا الكائن. قام الباحث Aizawa بحقن الارانب فى الوريد

بالفطر CC P.farinosus مرة خلال ٦ شهور ولم يتحصل على أية تأثيرات معاكسة. الفطر Nomuraea rileyi لم يحدث أية تأثيرات معاكسة على الضفادع. الاسبرحبليس فيه أنواع ممرضة للحشرات وفيه أيضا بعض الانواع ممرضة للفقاريات. A.Flavus و A.ochraceus تعتبر من ضمن الممرضات على الحشرات. لقد سجلت حالات عديدة من العدوى من الاسبرجلس فى الطيور وغيرها من الحيوانات والانسان. الكائن عنيف فى الغزو ولكنه ثانوى بعد ظروف الضعف أو الوهن ومع طول العلاج بالمضادات الحيوية ولكنه قد يكون ممرض أولى فى بعض الظروف. الاسبرجلس يعتبر ثانى أشيع داء فطرى Mycosis فى الانسان مع اورام حميدة Malignant. الجنس Coelomomyces ذات مقدرة فى مكافحة البعوض ضمن المكافحة الميكروبية.

(د) البروتوزوا Protozoa

من أكثر البروتوزوا فى الحشرات الميكروسبورا والتى تم تقييمها كوسيلة فى المكافحة الحيوية ضد البعوض والجراد وحشرات حرشفية الاجنحة. من سوء الطالع أنه يوجد ميكروسبورا أخرى تعدى الاسماك وغيرها من الحيوانات والانسان ولو أن معظم الانواع التى وجدت فى الفقاريات كانت متميزة تقسيميا. النوزيما التى لاقت الاهتمام كوسيلة مُكافحة حيوية لم تجد الاهتمام خاصة فى اتجاه احداثها العدوى فى الفقاريات. هذه الكائن يرتبط مع Encephalitozoon Caniculi التى تسبب الامراض فى الارانب والعديد من الثدييات. من أنواع الميكروسبورا الشائعة N.algerae و N.locustae والتى تلقى الاهتمام فى اختبارات الامان. اختبارات الامان لم تثبت حدوث أية تأثيرات مرضية أو مواضع ضرر.

(هـ) النيماتودا Nematodes

توجد ١٩ عائلة من النيماتودا تحتوى على أفراد تعمل كطفيليات اختيارية Facultative أو اجبارية Obligate على الحشرات. من أهمها عائلة Mermithidae كوسيلة مكافحة حيوية وهى لنوع واحد أو أنواع قليلة من الحشرات وأضرارها على الثدييات لا تذكر. اختبارات الامان لم تظهر أية أضرار أو مرضية سريرية.

الاستنتاجات Conclusions

الاختبارات على الممرضات الحشرية لتقدير ولتحديد الامان على الحيوانات والانسان تعتبر من الامور الهامة فى هذا السبيل. ليس من المهم أن تبشر بكونها تصلح

كوسيلة مكافحة ميكروبية أم لا حيث أنها لو كانت تحدث عدوى أو تسبب سمية عندما تتعرض الفقاريات لها فانها تعتبر أكثر ضررا وخطورة عن الكائنات النافعة.

الدلائل التى اقترحها الباحث Ignoffo (١٩٧٣) لتخطيط وتمثيل دراسات الامان الخاصة بالممرضات الحشرية على الفقاريات ما زالت قابلة للتطبيق حتى الان وهى:

١- الفرضية المسبقة عن الامان أو نقص الامان على الفقاريات والكائنات الاخرى التى تبنى على دراسات أجريت على أنواع قريبة قد تكون كدليل للدراسات الابتدائية ولكنها يجب ان تتأكد عن طريق تجارب مباشرة تصمم خصيصا لتقييم ممرض حشرى معين.

٢- أمان الممرضات الحشرية على الفقاريات نسبى. كذلك فان تمثيل النتائج يجب أن يأخذ فى الاعتبار الجرعة المعطاة وكيفية اعطائها لكائن أو حيوان الاختبار وكذلك على كيفية تقييم الامان أو نقص الامان.

٣- لا يمكن ضمان ما يعرف بالامان المطلق فى كل النظم الحية فى كل الاوقات. السمية أو المرضية يمكن تحديدها اذا لم تكن هناك قيود أو حدود للجرعة أو نظام ونوع الفقاريات المستهدفة.

٤- تقارير السمية المرضية أو المرضية السمية Toxicity pathogenicity لممرض حشرى متخصص أو معين يجب أن تقيم بعناية وتدبر Prudently فى مقابل التقارير التى يغيب عنها المرضية السمية.

REFERENCES

Aizawa. K.. Ed.. Recent development in the production of insecticides in Japan. Proc. 1 st Int. Coll. Invertebr. Pathol.. Queens University. Kingston Ontario. 1976. 59-63.

Barker. R. J. and Anderson. W. F.. Evaluation of Beta exotoxin of Bacillus thuringiensis Berliner for control of flies in chicken manure. J. Med. Entomol.. 12. 103. 1975.

Cantwell. G. E.. Heimpel. A. M.. and Thompson. M. J.. The production of an exotoxin by various crystal- forming bacteria related to Bacillus thuringiensis var. thuringiensis Berliner. J.. Insect Pathol.. 6. 466. 1964.

Doller. G.. The safety of insect viruses as biological control agents. in Viral insecticides for Biological Control. Maramorosch. K. and Sherman. K. E.. Eds.. Academic Press. New York. 1985. 399.

Egerton. J. R.. Hartley. W. J.. Mulley. R. C.. and Sweney. A. W.. Susceptibility of laboratory and farm animals and two specties of duck to the mosquito fungus Culicinomyces sp.. Mosq. News. 38. 260. 1978.

Fisher. R. and Rosner. L.. Toxicology of the microbial insecticide. J. Agric. Food Chem.. 7. 686. 1959.

Gingrich. R. E.. Bacillus thuringiensis as a feed additive to control dipterous pests of cattle. J. Econ Entomol.. 58. 363. 1965.

Heimpel. A. M.. Investigations of the mode of action of strains of Bacillus cereus Frankland and Frankland pathogenic for the larch sawfly. Pristiphora erichsonii (Htg.). Can. J. Zool.. 33. 311. 1955.

Ignoffo. C. M.. Effects of entomopathogens on vertebrate. Anp. N. Y. Acad. Set.. 217. 141. 1973.

Jacobson. E. R.. Biology and diseases of reptiles. in fox. j. G.. Cohen. B. J.. and Loew. F. M.. Eds.. Laboratory Animal Medicine. Academic Press. New York. 1984. 449.

Jones. T. C. and Hunt. R. D.. Diseases by higher bacteria and fungi. in Veterinary Pathology. 5 th ed.. Lea & Febiger. philadelphia. 1983. 638.

Kuhn. C.. III and Askin. F. B.. Lung and mediastinum. in Anderson's Pathology. 8 th ed.. Kissane. J. M.. Ed.. C. V. Mosby. St. Louis. 1985. 833.

Mulley, R. C., Egerton, J. R., Sweeney, A. W., and Hartley, W. J., Further tests in mammals, reptiles, and an amphibian to delineate the host ranger of the mosquito fungus Culicinomyces sp., Mosq. News, 41, 528. 1981.

Ohba, M. and Aizawa, K., Mammalian toxicity of an insect iridovirus, Acta Virol., 26, 165, 1982.

Roberts, D. W., toxins of entomopathogenic fungi, in Microbial Control of Pests and Plans Diseases 1970-1980, Burges, H. D., Ed., Academic Press, New York, 1981, 441.

Siegel, J. P., Shadduck, J. A., and Szabo, J., Safety of the entomopathogen Bacillus thuringiensis var. israelensis for mammals, J. Econ. Entemol., 80, 717, 1987.

Thomas, W. E. and Ellar, D. J., Bacillus thuringiensis var. israelensis crystal delta-endotoxin: effects on insect and mammalian in vitro and in vivo, J. Cell Sci., 60, 181, 1983.

Undeen, A. H., Growth of Nosema algerae in pig kidney cell cultures, J. Protozool., 22, 107, 1975.

Vandekar, M., The safety of entomopathogens for mammals: Present evaluation methods and approaches and suggestions for the future, Progress Report to WHO, mimeographed document, TDR/BCV/SWG.79/WP.04, World Health organization, 1979.

WHO. Mammalian :afety of microbial agents for vector control: a WHO Memorandum, Bull. W.H.O., 59, 857, 1981.

الباب الرابع

أمان المبيدات الحشرية الميكروبية على اللافقاريات غير المستهدفة

الفصل الأول: الأمان على اللافقاريات غير المستهدفة من الفيروسات العصوية.

الفصل الثاني: الأمان على اللافقاريات غير المستهدفة فى سلالات حرشفية الاجنحة للباسيلليس ثورينجينيز والبيتا- اكسوتوكسينات.

الفصل الثالث: أمان باسيلليس ثورينجينسيز اسرائيلينسيز والباسيلليس سفيريكس على الكائنات غير المستهدفة فى البيئات المائية

الفصل الأول

الأمان على اللافقاريات غير المستهدفة من الفيروسات العصوية

١ــ مقدمة Introduction

مكافحة الافات فى المحاصيل الحقلية والغابات للحفاظ على أو خفض مجموع الافة لاقل من الحد الاقتصادى للضرر Economic threshold تعتبر من المطالب المسبقة لانتاج الطعام والسلع الزراعية الضرورية لحياة الانسان والحيوانات الاليفة. مع تزايد المعلومات عن التلوث أو الاتساخ البيئى من جراء الاسراف فى استخدام المبيدات الكيميائية تم تكثيف الجهود واجراء مزيد من البحوث لايجاد بدائل وطرق فعالة لحماية المزروعات فى السنوات الحديثة. استخدام المبيدات الحشرية الحيوية biological insecticides سواء منفردة فى الزراعات المصابة بافة واحدة (رئيسية) أو مخلوطة مع وسائل أخرى واستخدامات بطرق مع منظومة الادارة المتكاملة للافات IPM فى الزراعات التى تعانى من افات عديدة درست أساسا بالنظر للفاعلية على الافة المستهدفة. البحوث التى تناولت التأثيرات الضارة deleterious على النظام البيئى نادرة الاجراء فيما عدا التأثيرات التوكسيكولوجية و/أو المرضية على الفقاريات. فى هذا المقام سوف نتناول أمان الفيروسات العصوية baculoviruses على اللافقاريات invertebrates بسبب أن بعد ثبوت مقدرة هذه الفيروسات وكفاءتها فى الوبائية المرضية epizootics الطبيعية فى مجاميع الافات الحشرية فقد تقرر وتكونت قناعة بأن الفيروسات العصوية تعتبر المكون الاكبر فى نظم الادارة المتكاملة للافات.

العائلة باكولوفيريدى تتكون من جنس واحد فقط هو Baculovirus وهو يتميز بفيريونات ذات حمض نووى "دنا DNA" دائرى مزدوج الشرائط مع حوالى ١٠٠ لأكبر من١٥٠ أزواج كيلوباز. حول المركز الفارغ فان معقد دنا- بروتين يكون حلزون عملاق يحاط بطبقة بروتين. وهو ما يطلق عليه الغشاء الاساسى intimate membrane. الجنس باكولوفيروس يقسم الى ثلاثة تحت مجاميع تبعا للصفات المورفولوجية. أفراد تحت المجموعة (A) وهى فيروسات البولى هيدروزيس النووية (NPV's) ذات فيريونات عديدة تحتوى على واحد أو عديد من نيوكلوكابسيدات nucleocapsids فى كل فيريون فى كل جسم ضمين occlusion body و البولى هيدرون Polyhedron. هذه الاجسام الضمينة تتكون فى أنوية خلايا المعدية بالفيروس

NPV. فى تحت المجموعة (B) وهى الفيروسات المحببة(GV) يتكامل نيوكلوكابسيد واحد فقط فى كل فيريون حيث يغرس الفيريون فى الجسم الضمين (كبسولات). تضاعف الفيروس وتكوين الجسم الضمين للفيروس المحبب يحدث فى سيتوبلازم الخلايا المعدية بعد أن يتفسخ الغلاف النووى مما أدى الى الاقتراح بوجود خليط من المادة النووية والسيتوبلازمية. تحت المجموعة (C) الفيروسات غير الضمينة nonoccluded تتكون من نيوكلوكابسيدات مفردة الغلاف وهى غير ضمينة.

الفيروسات العصوية وجدت فقط فى اللافقاريات ولا يعرف أى فرد من هذه العائلة يصيب الفقاريات أو النباتات الراقية. لقد سجل وجود الفيروسات العصوية فى رتب الحشرات: غمدية، ثنائية، غشائية، حرشفية، شبكية الاجنحة والتراى كوبترا. الفيروسات العصوية(أو الجسيمات شبيهة الباكولوفيروس) تم عزلها فى مختلف القشريات والاكاروسات والفطريات الممرضة للحشرات. أى فيروس عصوى يسبب وبائيات epizootic فى الحيوانات سواء كان يحدث طبيعيا أو تحفيز صناعيا بعد استخدام الفيروس ومن ثم يحدث تأثيرات ضارة فى البيئة. قبل التطبيق العملى للفيروسات العصوية كمبيدات حشرية يجب الاخذ فى الاعتبار تأثيرها على الافات المستهدفة والكائنات غير المستهدفة (NTO's) والحشرات النافعة. بسبب أن المدى العوائلى للفيروسات العصوية تحدد بشكل مكثف بداية لتحديد العوائل الجديدة القابلة للمكافحة بالفيروسات فاننا سوف نركز فى هذا المقام على التداخل بين الفيروسات العصوية والحشرات النافعة.

٢- تخصص الفيروسات العصوية على الافات الحشرية (كعوائل بديلة وأنواع غير مختلفة)

أظهرت دراسات العدوى العبورية Cross- infectivity باستخدام العدوى عن طريق الفم وجرعات عالية من لقاح الفيروس inoculum أن القليل من الفيروسات العصوية متخصصة النوع. فى الواقع فان معظم هذه الفيروسات ذات مدى عوائلى ضيق ولكنها لا تزيد اطلاقا عن الرتبة order وفى العادة لا تزيد عن عائلة العائل الذى تم عزل الفيروس منه فى الاصل. من الشائع أن المدى العوائلى يكون محدودا على جنس العائل المختص competent host. بوجه عام فان المدى العوائلى لفيروس NPV من حرشفية الاجنحة أوسع من ذلك الخاص بالفيروسات المحببة GV أو NPV من ذبابة النشارة والتى ظهر بعضها ذات تخصص فى النوع. الفيروس العصوى غير الضمين من حشرة oryctes chinoceros (غمدية الاجنحة scarabeidae) يعدى بعض

خنافس dynastine الاخرى بينما ذلك من أكاروس بانونيتس سترای (أكاری- تترانيكيدى) يكون معدى (لدرجة معينة) للأكاروس تترانيكس يورتيكا فقط. الفيروس العصوى من الجمبرى penaeus dyorarums تم عزله من العديد من أنواع أخرى من الجمبرى.

هذه ولو أن تمثيل نتائج العدوى العبورية من الصعوبة بمكان ان لم يكن مستحيلا فى حالة حشرات الاختبار التى تم عدواها فعلا (ولو أنها غير واضحة) بالفيروس. من المعروف أن الفيروسات غير المعدية noninfectious لعائل معين قد لا تمثل أى اجراءات فى تنشيط الفيروس الضحية occult virus. لذلك فان مصدر الفيروس الموصف ذات الصفات البيوكيميائية المعروفة يعمل كلقاح فيروسى كما يعرف كفيروس مميت حتى يمكن الحصول على نتائج عقلانية كمثال الفيروس plaque المنقى الضرورى فى دراسة العدوى العبورية. العديد من نتائج دراسات العدوى العبورية محل تساؤلات بسبب حقيقة أن الفيروس النسل progeny virus لم تعرف وقورنت بلقاح الفيروس.

لقد عرف أنه توجد اختلافات محددة فى الحساسية بصرف النظر عن الحالة التقسيمية للعائل البديل بالمقارنة بالعائل المختص. الحساسية المنخفضة فى حشرة Heliothis subflexa لفيروس H.zea- NPV بالمقارنة بحشرة H.virescens ترجع الى تداخل الفيريونات والخلايا الطلائية للمعى الاوسط ويبدو أنها يسيطر عليها عن طريق جين فردى. ميكانيكية المدى العوائلى يجب أن تحدد ولو أن بعض متطلبات نجاح العدوى معروفة:

١- يجب أن يتم تناول الفيروس حتى تحدث العدوى طبيعيا.

٢- الأجسام الضمينة لفيروسات NPV و GV يجب أن تذاب فى معدة العائل الخاص المقتدر لتحرير الفيريونات.

٣- قبل فقد التنشيط بواسطة عصير المعدة يجب أن تمر الفيريونات الحرة خلال الغشاء الغذائى Peritrophic.

٤- الفيريونات يجب أن تدمص على الخلايا الطلائية للمعى الاوسط عند مستقبلات خاصة على الخمائل الدقيقة microvilli.

٥- امتصاص الفيروس وانتقال النيوكلوكابسيد لأنوية الخلايا وعدم تغليف الحامض دنا الفيروسى وتضاعف الدنا وترجمته وتجميعة assembly الى جسيمات فيروس ناضجة يجب أن تحدث.

٦- فى حالة حشرات حرشفية الاجنحة يجب أن تنفرد وتتحرر الفيريونات خلال غشاء البلازما التصاعدى لخلايا المعى الاوسط كى تسبب عدوى عامة والتى تؤدى فى النهاية لقتل اليرقات.

تقييد المدى العوائلى للفيروسات العصوية على العائلة أو حتى الجنس فى العائل الاصيل الذى تم عزل الفيروس منه يجعل من المستحيل تخطى حدود رتبة العائل الاصيل وهذا قد يعتمد على حقيقة أنه فى كل الكائنات الاخرى فان واحد على الاقل من هذه المتطلبات المذكورة أعلاه لا يستكمل.

٣- أمان الفيروسات العصوية على الحشرات النافعة

بسبب دور الفيروسات العصوية كمبيدات حشرية ميكروبية فانها يجب أن تسجل كأى مبيد قبل التسويق كما أن بروتوكولات اختبار التأثيرات الجانبية للباكولوفيروسات على الحشرات النافعة يشابه تلك التى تتبع المبيدات الكيميائية التقليدية (سأضعها باللغة الانجليزية حتى يتأكد المتشككون والذين يصرون على أن المبيدات الميكروبية فيروسية كانت أو بكتيرية وغيرها ذات أمان مطلق ومن ثم لا تستوجب اجراء أية اختبارات للتأكد من الامان والتأثيرات الجانبية).

Because in their role as microbial insecticides baculoviruses have to be registered as any other pesticide prior to marketing, the protocols for testing the side effect of baculoviruses on beneficial insect have been similar to those for conventional chemical pesticides.

كمثال فان معظم الاهتمامات والتعليقات تركزت على تأثير الفيروسات العصوية على نحل العسل وغيرها من الحشرات النافعة مثل دودة الحرير (جدول ٤-١). بالإضافة الى ذلك فانه يستخدم بروتوكولات قياسية لاختبار التأثيرات الجانبية للمبيدات الكيميائية على بعض المفترسات والطفيليات لتقييم تأثير استخدام الفيروسات العصوية على هذه الحشرات النافعة.

في العادة فان الاختبارات التى تجرى على الحشرات النافعة تنفذ فى المعمل ومن النادر أن تجرى فى الحقول. اتباع البروتوكولات القياسية يحتم أن المبيدات التى تظهر تأثيرات ضارة فى الاختبارات المعملية يجب أن تختبر كذلك تحت الظروف الحقلية.

نحل العسل وديدان الحرير: مع قبول تقييد عدوى بعض أنواع الفيروسات العصوية على العائلة أو على الاقل للرتبة فى العائل الاصلى فان نقص الضرر على الملقحات وديدان الحرير من جراء الفيروسات العصوية لا تثير الدهشة أو الغرابة. لم تظهر أيا من محاولات تحدى النحل بالممرضات الحشرية أية تأثيرات ضارة. معاملة كل المستعمرات لم يؤدى الى حدوث أية شذوذ فى انتاج البيض أو تربية الحضنة أو موت الشغالات والملكة وكذلك فى السلوك العام للمستعمرة (جدول ٤-١). تم دراسة حساسية ديدان الحرير للفيروسات العصوية من عوائل أخرى. باستثناء Caifornica NPV Autographa وهو من الفيروسات العصوية الاعرض مدى عوائلى معروفة وكذلك Bombyx mori-NPV لم تظهر أية فيروسات عصوية أخرى أية تأثيرات ضارة على ديدان الحرير الاخرى (جدول ٤-٢).

جدول (٤-١): دراسات سمية الفيروسات العصوية فى نحل العسل

الفيروس Virus	معزول من Isolated from	التعرض Exposure	التأثير Effect
NPV	Autographa Califorica	Per os to adult bess either individually or to whole colony	-
NPV	Choristoneura Fumiferana	After aerial application monitoring the impact on colonies	-
NPV	Heliothis zea	Per os to adult bess either ivdiviually or to whole colony	-
NPV	Lymantria dispar	Per os to bess in a colony	-
NPV	Mamestra brassicae	Contact. Per os to adult bees	-
NPV	Orgyia Pseudotsugata	Per os to bees in a colony	-
NPV	Spodoptera Frungiperda	Per os to bees in a colony	-
NPV	Thymelicus lineola		-
NPV	Trichoplusa ni	Per os to bees in a colony	-
NPV	Neodiprion lecontei	After aerial application monitoring The impact on colonies	-
NPV	Neodiprion sertifer	Per os to bees in a colony	-
GV	Cydia Pomonella	Contact. Per os to adult bees either Individually or to whole colony	-
GV	Estigmene acrea	Per os to bees in a colony	-
a	No deleterious		

جدول (٤-٢): حساسية ديدان الحرير للفيروسات العصوية

الفيروس Virus	معزولة من Isolated from	دودة الحرير Silkworm	النتائج Result
NPV	Authographa Californica	Anisota senatoria[b]	+
NPV	Bompex mori	Samia cynthia[b]	+
NPV	Euproctis similis	Bompex mori[c]	-
		Samia cynthia[b]	-
NPV	Heliothis zea	B. mori[c]	-[d]
NPV	Hyphantria cunea	B. mori[c]	-
NPV	Momestra brassicae	Antheraea pernyi	-
		B. mori[c]	-
NPV	Pseudaletia separata	A. mylitta[b]	-
		Samia ricini[b]	
		B. mori[c]	
NPV	Spodoptera litura	B. mori[c]	-
GV	Artona funeralis	B. mori[c]	-
GV	Cydia pomonella	A. pernyi[b]	-
GV	Hyphantria cunea	B. mori[c]	-
GV	Pieris rapae	Bombyx spp.[c]	-

a + lethal infection; - no delecterious effect.
B (Lep.: Saturniidae).
C (Lep.: Bombycidae).
d Virus preparation with a high cantamination by bacteria were harmful to silkworms.

أ- **المفترسات** Predators: لقد أكدت الدراسات المعملية على مفترسات متعددة من يرقات حرشفية الاجنحة (البنثاتوميدز، القمل المجنح، أبى العيد، الخنافس الكانسة) أن الفيروسات العصوية لا تحدث أية تأثيرات معاكسة عندما تغذت على يرقات معدية بفيروسNPV ولا حتى عند تتابع ما يحدث لها من جراء تغذيتها على الاجسام الضمينة للفيروسات العصوية المعلقة فى بيئات مغذية نصف مخلقة ولا مع الملامسة مع تجهيزات NPV أوGV. بالاضافة الى ذلك فان المفترسات تعتبر من وسائل انتشار الفيروسات العصوية النشطة. هذا يرجع الى حقيقة أنها تتغذى فى الغالب على اليرقات المعدية بالفيروس وكذلك على اليرقات التى ماتت من تأثيرات الفيروسات العصوية ومن ثم تنتج أجسام ضمينة معدية. الدراسات الخاصة بنشر الفيروسات العصوية بواسطة المفترسات مدونة فى الجدول (٤-٣). النتائج من الاختبارات الحقلية أدت الى الاقتراح بأن معقد المفترس يحفز النشاط الوبائى للفيروسات العصوية بواسطة تلويث المجموع الخضرى للاجسام الضمينة سواء

مباشرة بعد أن تنظف الافراد أجزاء منها أو خلال البراز. بسبب أن الاجسام الضمينة تمسك فى معدة حوريات غير متجانسة الاجنحة التى تفترس على العوائل المصابة بالفيروس حتى ما بعد الانسلاخ الاخير حيث تكون الحشرات البالغة (قوية الطيران Fliers) قادرة على تقديم اللقاح الفيروسى لمجاميع الافات الصحية.

جدول (٤-٣): انتشار ونشر الباكولوفيروسات بواسطة المفترسات

المفترس Predator	الفيروس Virus	الضحية Prey	موقع الاختبار Test site	النتيجة Result
Orthoptera(Acridiidae) Acrotylus Patruelis	NPV	Spodoptera exampta	Field/ lab	Virus activity in feces and gut content
(Oecanthidae) Oecanthus sp.	NPV	Anticarsia gemmatalis	Field	Virus activity in feces (predator homogenates)
(Tettigoniidae)	NPV	A. Gemmatalis	Field	Virus activity in feces (predator homogenates)
Dermaptera	NPV	A. Gemmatalis	Field	Virus activity in feces (predator homogenates)
Heteroptera (Lygaeidae) Geocoris spp.	NPV	A. Gemmatalis	Field	Virus activity in feces (predator homogenates)
(Miridae) Span(a)gonicus sp.	NPV	A. Gemmatalis	Field	Virus activity in feces (predator homogenates)
(Nabidae) Nabis Tasmanicus	NPV	Heliothis punctigera	Field	Virus activity in Feces
Nabis spp.	NPV	A. Gemmatalis	Field	Virus activity in feces (predator homogenates)

ب- **أشباه الطفيليات** Parasitoids: هناك امكانية لاحداث تأثيرات من جراء استخدام تحضير الفيروس على أشباه المتطفلات البالغة وكذلك التتابعات الاكثر أهمية ليرقات الافة المتطفل عليها التى تصبح معدية وأن العائل المعدى يصبح متطفل عليه Parasitized. توجد القليل من نتائج دراسات على تأثير الفيروس على

الطفيليات البالغة. هذا يوضح أن الدراسات على المدى العوائلى لم تظهر أية تأثيرات ضارة. عندما تعرضت ترايكوجراما كاتوكيا الى أو عندما تناولت جرعات مختلفة من البولى هيدرا لحشرة ماميسترا براسيكا المعدية بالفيروسNPV دون أى تغيير فى معدلات التطفل. لقد تم نشر نتائج للكوتسيا ميلانوسكيلس حيث تغذت الاناث المتزاوجة مع ليمانتاريا ديسبار- NPV دون أية تأثيرات على دوام حياة الدبابير ومعدل تطفلها. ولا على النسبة الجنسية للدبابير المنبثقة من الجيل التالى.

أجريت الاختبارات بواسطة عدوى يرقات العائل المتطفل عليها مسبقا بفيروس الباكولوفيروس أو بواسطة تطفل العائل المعدى مسبقا. تحدث التأثيرات الضارة على يرقات شبيهة الطفيل اذا تم قتل العوائل أو تغيرت فسيولوجيا بواسطة الفيروس قبل تعذر الطفيل. عامل أو عوامل السمية Toxic factor(s) فى هيمولميف اليرقات والتى أعديت على التوالى بالسلالة المنشطة Synergistic strain بفيروس حشرة Mythimna unoquncta-GV أو السلالة فائقة التغذية بفيروسNPV نفس الحشرة كانت من أكثر التغيرات التى تعتمد على الفيروس فى العوائل المصابة. مع السلالات التقليدية للفيروسات GV وNPV ومع أن عامل أو عوامل السمية لم تحفز فانه لم تسجل تأثيرات ضارة على حشرة Glyptapanteles militaris.

خلاصة القول أن الفيروسات العصوية ذات مدى عوائلى ضيق ولا يوجد دليل على حدوث تأثيرات ضارة مباشرة. كل التأثيرات المميتة وتحت الطبيعية Sublethal غير مباشرة وتتسبب عن عدم ملائمة العائل بسبب عدوى الفيروس. الاستثناء يتمثل فى سلالة GV (منشطة Synergistic) وNPV (فرط التغذية hypertrophic) للحشرة M.unipuncta والتى تحفز عوائل السمية فى اليرقات. كل التأثيرات القاتلة ترتبط لاشباه الطفيليات المنيعة فى العوائل المصابة بالفيروس (جدول ٤-٤) والتى زادت مع زيادة الفترات بين تبويض أشباه الطفيليات وعدوى الفيروس.

المقدرة على تمييز العوائل المعدية بالفيروس من العوائل الصحية تحقق ميزة اختيارية للطفيليات. تمييز العائل سجل مع شبيه الطفيل cotesia melanoscelus التى تتطفل على حشرة ليمنتاريا ديسبار. التلامس بين الطفيل والعائل يختلف بشكل معنوى بين يرقات ليمنتاريا ديسبار المعدية وغير المعدية ولكن محاولات التبويض فى اليرقات غير المعدية كانت ٦٨,٧% وهى أكبركثيرا عما هو الحال مع اليرقات المعدية بالفيروس (٣٢,١%).

جدول (٤-٤): تطور الطفيليات فى العوائل المعدية بالباكولوفيروس

الطفيل Parasite	العائل Host	الفيروس Virus	النتيجة Result
Hymenoptera (Braconidae)			
Cotesia glomerata	Pieris rapae	GV	Parasites survive only if larvae were infected 4 days Parasitization: survival rate of the parasite is negative correlated to virus dosage
C. marginiventris	Spodoptera mauritius	NPV	Death of the host causes death of the (immature) parasite: parasites puate in living infected hosts
C. marginiventris	Mythimna unipuncta	GV-s	No mortality
C. marginiventris	Spodoptera exigua	GV-s	Significantly higher mortality rate: death short after emergence from host before completion of cocoon spinning
C. marginiventris	M. unipuncta	NPV-h[h]	Normal development of the parasite
Glyptoantales militaris	M. unipuncta	NPV	Normal development of the parasite
G. militaris	M. unipuncta	NPV-h	Mortality of parasites- caused by a toxic factor in the hemolymph of infect larvae
G. militaris	M. unipuncta	GV-s	Mortality of parasites
Chelonus insularis	M. unipuncta	GV-s	Death of the host causes death of the (immature) parasite
C. insularis	S. exigua	GV-s	No mortality, but significant longer time for development
C. insularis	M. unipuncta	NPV-h	Death of the host causes death of the (immature) parasite- parasites were alive in morebund hosts
(Encyrtidae)			
Copidosoma truncatellum	Trichoplusia ni	NPV	Death of the host causes death of the (immature) parasite
(Ichneumonidae)			
Completis sonorensis	Heliothis virescens	NPV	Death of the host causes death of the (immature) parasite (if infection prior to parasitization):parasites survive, if host is infected 48 h or more after parasitization
C. sonorensis	M. unipuncta	GV-s	No mortality, but significant longer time for development
C. sonorensis	M. unipuncta	NPV-h	No mortality and alteration of development
Hyposoter exiguae	T. ni	NPV	Death of the host causes death of the (immature) parasite (if infection prior to parasitization):parasitessurv-

			ive if host is infected after parasitization: time for development of para sites in infected hosts significantly reduced
H. exiguae	M. unipuncta	GV-s	No mortality. but significant longer time for development
H. exiguae	S. exiguae	GV-s	No mortality. but significant longer time for development
H. exiguae	M. unipuncta	NPV-h	No mortalnty and alteration
(Pteromalidae)			
Pteromalus puparum	P. rapae	GV	Death of the host causes deathof the (immature) parasit. surviving parasites smaller and shorter living
(Calliphoridae)			
Sarcodexia innota	Urbanus proteus	NPV	Development of the parasite in diseased larvae: however. Failure to emerge from puparia
S. innota	Epargyreus clarus	NPV	Emerging from diseased larvae
(Tachinidae)			
Blepharipa pratensis	Lymantria dispar	NPV	Death to the host causes death of the (immature) parasite: survival rate of the parasite is negative correlated to virus dosage
Compsilura concinnata	M. unipuncta	GV-s	No effect development. But fewer parasites emerged from infected hosts
C. concinnata	M. unipuncta	NPV-h	No effect development. But fewer parasites emerged from infected hosts
Parasachopaga misera	Spodoptera litura	NPV	No mortality and alteration of development
Voria ruralis	T. ni	NPV	Death of the host causes death of the (immature) parasite

a Synergistie strain of the Mythinna unipuncta GV.[30]
b Hypertrophic strain of the Mythinna unipuncta NPV.[31]

التاكينيد Chrysotachina alcedo تنبثق فقط فى يرقات أوربانس بروتيوس غير المعدية خلافا للساركوفاجيد Sarcodexia innota كما اتضح من الدراسات الحقلية. معظم S. innota التى تنبثق كيرقات من يرقات U. proteus المريضة وتتعذر خارج يرقات العائل تفشل فى تحقيق انسلاخ ناجح فى اتجاه الحشرة الكاملة. العديد من عذارى S. innota كانت شاذة من حيث صغر الحجم مما يوضح أن يرقات U. proteus المعدية بالفيروس كانت عوائل غير مناسبة. لقد حدث نفس الشئ مع الساركوفاجيد التى تنبثق من يرقات E. clarus المعدية بالفيروس.

اناث Hyposoter exiguae لا تميز بين العوائل المعدية وغير المعدية بالفيروس. يرقات شبيه الطفيل داخل العوائل والتى تتعرض للفيروس قبل التطفل تموت عوائلها من جراء العدوى بالفيروس ولكن اليرقات فى العوائل التى تعرضت للفيروس بعد التطفل أكملت تطورها قبل أن تموت عوائلها. تمضى الطفيليات وقتا أقل كثيرا فى عوائلها اذا تعرضت للفيروس بعد التطفل مباشرة. بالاضافة الى ذلك فان حساسية يرقات Trichoplusia للفيروسNPV تكون أقل كثيرا عما هو الحال فى يرقات L. dispar يوجد تأثير تنشيطى لعامل الموت للفيروس NPV والتاكنيد بليفا-يبابرانتسيز. دمج الفيروس NPV وشبيه الطفيل تزيد الموت ولكن على حساب شبيه الطفيل.

انتقال وانتشار عدوى الباكولوفيروس بواسطة الطفيليات من المجموع المصاب من الافات الحشرية الى الحشرات السليمة الصحية يمكن أن يحدث ميكانيكيا. هذا يحدث من خلال الطفيليات الملوثة بالفيروس والتى لامست حديثا اليرقات. التى ماتت بالفيروس أو تلك التى أصبحت ملوثة بواسطة مادة العقى meronium التى تحتوى على الفيروس من خلال انتقال الممرض الحشرى للمجموع الخضرى الذى استهلك بواسطة يرقات العائل أو الى العائل الطازج بواسطة الة وضع البيض الملوثة بالفيروس.

جـ- الكائنات المائية غير المستهدفة (NTO's): التأثيرات الجانبية على اللافقاريات غير المستهدفة الناتجة من تطبيق الفيروسات العصوية كانت مجالا لعديد من الدراسات التى استخدم فيها الانواع من الرتب المختلفة المدونة في جدول (٤-٥). على نسق الدراسات الاخرى عن التأثير على البيئة لهذه الممرضات الحشرية لم تثبت حدوث تأثيرات معاكسة

جدول (٤-٥): تأثير الفيروسات العصوية على اللافقاريات المائية

الفيروس Virus	معزول من Isolated from	الانواع المعرضة Exposed species	النتائج Result
NPV	Autographa californica	Penaeid shrimps	- -
NPV	Heliothis zea	Cryfish, brown shrimp, grass shrimp, Daphnia, oyster	-
NPV	Lymantria dispar	Daphnia, Chironomus, notonecta, waterboatmen	- -
NPV	Neodiprion lecontel	Daphnia	-
GV	Pieris rapae	Shrimps	
Baculovirus from penaeid shrimps		Shrimps	-

a - no advers effect; + lethal infection

٤- تأثير تطبيقات الفيروسات العصوية فى الحقول:

أوضحت نتائج التجارب المعملية عدم حدوث تأثيرات ضارة من جراء تطبيق تحضيرات الفيروسات العصوية وكذلك على الحشرات النافعة مثل الترايكو جراما. تلوث بيض العائل بالفيروس لم يحدث تأثير طارد على الطفيل والفيروس لم يؤثر عكسيا على تطور الطفيل فى البيض. فى التجارب الحقلية على المدى الطويل فى المانيا أخذت الاعتبارات حول تأثير الفيروس المحبب للفراشة الغجرية (GPGV) على الاحياء على أشجار التفاح. عند اعتبار مجموع العائل فان المعاملة بفيروسGPGV ذات تأثير واضح على مجموع طفيليات الفراشة الغجرية على عكس معقد طفيل أنواع لآفات الاوراق. لسبب أن لآفات الاوراق لا تغذى بواسطة GPGV فإن مستوى المجموع يظل دون تغيير وهذا ما يحدث مع طفيلياتها وكذلك الافات الاخرى مثل العنكبوت الاحمر والمن فى القطع التجريبية المعاملة بالفيروس. يسبب المدى العوائلى الضيق للباكولوفيروس (بواسطة خذف المبيدات الحشرية الكيميائية) فان مجموع الاكاروس الاوربى الاحمر ومن التفاح الصوفى تبقى تحت الحد الاقتصادى فى القطع التجريبية المعاملة بالفيروس.

الخلاصة والاستنتاجات: حيث أن الفيروسات العصوية تحدث طبيعيا فان الحشرات النافعة تلامس دوما مع هذه الوسائل الطبيعية. التأثيرات الضارة للفيروسات العصوية على الملقحات والمفترسات وأشباه الطفيليات البالغة لم توجد فى الطبيعة. عدم التطور التقليدى العادى ليرقات الحشرات الملتهمة entomophagous فى العائل المصاب بالفيروس أثبتت حدوثها داخليا بسبب عدم ملائمة العائل لشبيه الطفيل محل التساؤل. تمييز العائل على أساس عدوى الفيروس سجل وثائقيا مما يشير الى ان بعض أنواع أشباه الطفيليات لا تضيع البيض "Waste"على العائل الذى سيموت على الفور. اشباه الطفيليات التى تتطور اجباريا فى البيض أو العذارى ن تتأثر بواسطة أو بعد تطبيق الفيروس لان هذه الاطوار غير حسلسة تقريبا لعدوى الفيروس. نقص أعداد الحشرات النافعة بعد مكافحة الافات بالفيروسات العصوية ترجع الى نقص أعداد العوائل. فى المحاصيل التى يوجد فيها معقد من الافات فان استخدام الباكولوفيروس الاختيارى سوف يسمح ببقاء كل الحشرات والاكاروسات الاخرى فيما عدا الافة المستهدفة. لذلك فان العوائل البديلة للمفترسات وأشباه الطفيليات ستظل متوفرة ومتاحة.

REFERENCES

Abbas. M. S. T. and Boucias. D. G.. Interaction between nuclear polyhedrosis virus- infected Anticarsta gemmatalis (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and predator Podisus maculoventris (Say) (Hemiptera Pentatomidae). Environ. Entomol.. 13. 599. 1984.

Beaver. J. B. and Reed. D. K., Susceptibility of seven teranychids to the nonoccluded virus of the cirtus red mite and the correlation of the carmine spider mite as a vector, J. Invertebr. Pathol.. 20. 279. 1972.

Groner. A., Specificity and safety of baculoviruses. in The Bology of Baculoviruses, Vol. 1, Grandos. R. R. and Federici. B. A.. Eds.. CRC Press, Boca Raton. FL. 1986. 177.

Hassan. S. A., Nebenwirkungen von Pflan/enschutzmitteln auf Nutzlinge. Nachrichtenbl. Dtsch Pflanzenschutzdienstes (Braunschweig). 36. 6. 1981.

Ignoffo. C. M., Specificity of insect viruses, Bull. Entomol. Soc. Am.. 14. 265. 1968.

Kaya. H. K., Toxic factor produced by a granulosis virus in armywom larva: Effect on Apanteles militaris. Science, 168, 251, 1970.

Lewls, F. B. and Podgwalte, J. D., Safety evaluations, in The Gnpsy Moth Rescarch towards Interdted Pest Management, Donae, C. C. and MeManus, M. L., Eds., U. S. Ment of Agriculature, 1981, 475.

Morton, H, I.,. Moffett, J, O., and Stewart, F. D., Effect of alfalfa looper nuclear polyhedrosis virus on honey bees, J, Invertebr, Pathol., 26, 139, 1975.

Smith. R. P. and Kurezewski. F. E., The gypsy moth, Lymantria dispar (L.) (Lepidoptera, Lymanoridae). Its parasitoid (Hymenoptera. Braconirae) and the nuclear polyhidrosis virus: an ultratructural study, Pol. Pismo Entomol., 50, 189, 1980.

Tinsley, T. W. and Kelly, D. C., Taxonomy and nomenclature of insect pathogenic viruses. in Viral Insecticides for Biological Control, Maramorosch. K. and Sherman. K. E.. Eds., Academic Press, New York. 1985, 3.

Vail, P. V., Cabbage looper nuclear polyhedrosis virus-parasitoid interaction Enverion. Entomol., 10, 517, 1981.

Wu, J. F., Tai, G. G., Shi, M. B., Huang, Z. H., and Xian, B. C., [A preliminary study on granulosis of the zygaenid, Artoma funeralis Bulter], J. Bamboo Res., 2, 102, 1983 (Chinese);

الفصل الثاني

الأمان على اللافقاريات غير المستهدفة فى سلالات حرشفية الاجنحة للباسيلليس ثورينجينسيز والبيتا- اكسوتوكسينات

(١) **مقدمة:** منذ الاستخدام المبكر للمستحضرات التجارية للباسيلليس ثورينجينسيز قبل ٢٥ سنة مضت كان الامان واحدة من أكثر المميزات التى تعضدها من بين تطبيقات المبيدات الحشرية الميكروبية. هذه المنتجات الميكروبية على عكس المبيدات الكيميائية أظهرت تخصص عالى فى فعلها الابادى على الحشرات. لقد أظهرت قليل أو عدم السمية على الكائنات غير المستهدفة (NTO's) فى كلا الاختبارات المعملية والاستخدامات الحقلية الفعلية. حديثا وكنتيجة لزيادة الاهتمام بالبيئة والفهم الافضل للتوكسينات المرتبطة بالباسيلليس ثورينجينسيز فقد تركز الاهتمام على تأثيرات هذه التوكسينات على NTO's خاصة اللافقاريات.

المنتجات التجارية الاولى التى تبنى على هذا الكائن الدقيق قدمت فى الولايات المتحدة الامريكية عام ١٩٨٥ للاستخدام ضد يرقات حرشفية الاجنحة. النوع الذى استخدم فى اولى هذه المنتجات كانت باسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع ثورينجينسيز والمعروف عنها أنها تنتج كلا الدلتا- اندوتوكسين والبيتا- اكسوتوكسين. فى عام١٩٧٣ أوقفت ومنعت المنتجات التجارية التى تحتوى على البيتا- توكسين فى أمريكا بسبب اعتبارات أمان ناتج التمثيل metabolite هذا ومنذ ذلك الوقت كانت وأصبحت كل منتجات الباسيلليس ثورينجينسيز خالية تماما من البيتا- اكسوتوكسين.

الجدول (٤-٦) يضم ٢٣ نوع والتى أظهرت نشاط وفاعلية ضد حرشفية الاجنحة فى الاختبارات المعملية و/أو الحقلية. معظم البيانات عن الامان على الكائنات غير المستهدفة NTO's تحصل عليها بعد الحصول على المنتجات التجارية أو من خلال المعلومات التعضيدية للحصول على التسجيل والمركب فى وكالة حماية البيئة الامريكية EPA. بسبب هذا الوضع فان معظم المعلومات وثيقة الصلة تأتى فى ثلاثة تحت أنواع: ثورينجينسيز، كورستاكى، جاليرى والقليل من المعلومات تحصل عليها من التحت أنواع التسعة عشر الباقية. فى هذا المقام نذكر العديد من المستحضرات التجارية التى تختلف فى الفاعلية والاستخدامات المختلفة تحت النوع باسيلليس ثورينجينسيز (جدول ٤-٧).

جدول (٤-٦): تحت أنواع الباسيلليس ثورينجينسيز ذات النشاط ضد حرشفية الاجنحة

تحت النوع **Subspecies**	السيرولوجى **H- serotype**	دلتا- اندوتوكسين **&- endotoxin**	بيتا- اكسوتوكسين **B-exotoxin**
Thuringiensis	1	+	+ (or 0)
Finitimus	2	0	0
Alesti	3a	+	0
Kurstaki	3a, 3b	+	+ (or 0)
Dendrolimus	4a, 4b	+	0
Sotto	4a, 4b	+	0
Kenyae	4a, 4c	+	+ (or 0)
Galleriae	5a, 5b	+	0
Entomo	6	+	0
Aizawai	7	+	0
Morrisoni	8a, 8b	+	+ (or 0)
Ostriniae	8a, 8c	+	0
Tolworthi	9	+	+ (or 0)
Darmstadiensis	10	+	+ (or 0)
Toumanoffi	11a, 11b	+	0
Kyushuensis	11a, 11c	+	0
Pakistani	13	+	0
Israelensis	14	+	0
dakoto	15	+	?
wuhanensis	-	+	+
kumamoensis	18	+	+ (or 0)
japonensis	23	+	0

جدول(٤-٧): المستحضرات التجارية للباسيلليس ثورينجينسيز فى مكافحة يرقات حرشفية الاجنحة (سوف تذكر مصادرها فى متن الموضوع)

المنتج Product	تحت النوع باسيلليس ثورينجينسيز B- thuringiensis subspecies	النوع Type	الكفاءة Potency	الشركة Company
Bactospeine	Thuringiensis	Powder	1.0 IU mg	Solvay
	Kurstaki	Liquid	8.800 IU mg	
Biotrol XK		Powder	6.500 IU mg	Nuteilite
Bitoxibacillin	Thuringiensis	Powder	4X1 10 sp+crv g (0 6-0 8% exotoxin	(Produced in U. S. S. R)
Certan	Galleriae	Liquid		Sandoz
Diple WP	Kurstaki	Powder	16.000 IU mg	Abbott
Dipel 4L	Kurstaki	Liquid	8.800 IU mg	
Dipel 6L	Kurstaki	Liquid	13.200 IU mg	
Dipel 8L	Kurstaki	Liquid	17.600 IU mg	
Enterobacterin	Galleriae	Powder	1X10E9 sp g	(Produced in U. S. S. R)
Thuricide 30B	Thuringiensis	Liquid		Sandoz
Thuricide 50B	Thuringiensis	Liquid		
Thuricide HP	Kurstaki	Powder	16.000 IU/ mg	
Thuricide 16B	Kurstaki	Liquid	3.430 IU mg	
Thuricide HPC	Kurstaki	Liquid	4.000 IU /mg	
Thuricide32B/LV	Kurstaki	Liquid	8.000 IU/ mg	
Thuricide 48LV	Kurstaki	Liquid	12.000 IU/ mg	

Potency information derived from product labels and literature cited in this review.

(٢) السلالات الفعالة ضد حرشفيات الاجنحة:

أ- التأثيرات على كائنات المياه العذبة Freshwater Orgnisms:

لقد اتضح أن جراثيم باسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع كورستاكى ذات ثبات لبعض الوقت فى نظم المياه العذبة. لقد وجد Menon and De Mestral (١٩٨٥) أن٥٠% من الجراثيم تبقى حية ونشطة بعد ٥٠ يوم. من المرجح ان استخدام هذا النوع بالقرب من مواطن المياه العذبة سوف يؤدى الى وجود كميات صغيرة من الجراثيم والدلتا- اندوتوكسين فى الماء. فى دراستان حقليتان استخدمت مستحضرات BT كورستاكى فى البرك بالمعدلات الموصى بها على المحاصيل الزراعية. لقد قام Anderson بتقييم تأثيرات الدايبيل٤ إل على البلانكتون الحيوانية خاصة نوع الدافنيا فى البرك الصغيرة على امتداد ٣ شهور. لقد تم استكشاف البلانكتون الحيوانية zooplankton خاصة rotifers، copepods، clatocerans، هاموش الفانتوم (chaoborus sp) خلال الدراسة دون أن تظهر أية دلائل عن التأثيرات المعنوية

بالمقارنة بما كان موجودا قبل المعاملة مع أى من الانواع المدروسة. لقد أجرى Laszlo (١٩٧٩) دراسة مشابهة فى البرك حيث استخدم دايبيل فى صورة مسحوق قابل للبلل بمعدلات الحقل ولم تظهر أية تأثيرات سامة على القشريات الدقيقة microcrustaceans (copepods ، ostracoda) والاكاروسات (Hydracarina) والحشرات (ثنائية وغير متجانسة وغمدية الاجنحة Ephemeroptera، odanta).

لقد أجريت تجارب معملية على الحشرات المجموعة من أماكن تدفق وتيارات الماء لتحديد التأثيرات على الكائنات غير المستهدفة NTO's المرتبطة بالرش الواسع فى الغابات. لقد قام Edit (١٩٨٥) بجمع يرقات أنواع ترايكوبترا، بليوكوبترا، ايفيميريبترا وثنائية الاجنحة وعرضها لتركيزات الفيروسيد 321V تماثل الوضع الاسوأ فى الحقل وزيادة ١٠ وحتى ١٠٠ مرة عن هذه الكمية. من بين الحشرات التى أختبرت وجد أن سميليوم فيتاتوم حساسة للمنتج. فى دراسة مماثلة وجد Lacey واخرون (١٩٧٧، ١٩٧٨) أن هذا النوع أكثر حساسية للبكتريا BT كما كانت أكثر حساسية من أنواع سيميوليدى الاخرى. أنواع ترايكوبترا التى تعيش فى مجرى الماء فى نطاق حواجز الرش الجوى بالبكتريا BT فى الغابات وجدت أمعائها الوسطى تحتوى على تركيزات عالية من الجراثيم والبلورات بعد التطبيق ولم تلاحظ أية تأثيرات سامة.

ب- **التأثيرات على الكائنات البحرية** Marine organisms: جراثيم BT كورستاكى لا يتعايش فى ماء البحر كما فى المياه العذبة وبوجه عام فان ماء البحر يعتبر مبيد بكتيرى bactericidal على البكتريا غير البحرية. لقد وجد الباحثان مينون وديمسترال أن٩٠%من جراثيم تحت النوع هذا تموت بعد ٣٠ يوم من التعرض لماء البحر. حتى BT لا تداوم المعيشة لمدى طويل فى البحار ولكن من الممكن للكائنات التى تعيش فى هذه البيئة أن تقوم بتناول الجراثيم و/أو البللورات اذا اجريت المعاملات بالقرب من منطقة الشاطئ. عندما تم حقن خلايا BT والجراثيم فى الاستكوزا البالغة Oysters تمت تصفية الكائنات الدقيقة من النظم الموجودة فيها. لقد بلغت نسبة الالتهام للخلايا الخضرية ١٠٠%بعد ٢٤ ساعة من الحقن. بعد عشرة أيام من المعاملة لم يمكن التمييز بين الحيوانات المعاملة وغير المعاملة. لقد تم التهام ما يقرب من١٠٠%من الخلايا الخضرية بعد٢٤ساعة من الحقن. يرقات الاستكوزا (C.gigas) فى المربى الذى يحتوى على مدى عريض من تركيزات دايبيل 8L تطورت بشكل عادى.

لقد اختبرت أنواع عديدة من الكائنات البحرية فى المعمل بواسطة Alzieu وأخرون (١٩٧٥) وهى بلح البحر من الرخويات Mussels والاستكوزا والحلازين البحرية Periwinkle والجمبرى حيث تم تعريضها فى المربى لتركيزات الدايبيل من١٠- ٤٠٠ مللجم/لتر لمدة ٩٦ ساعة. فى التجارب الحقلية فان٢٠ مللجم/لتر تمثل تركيز ١٠٠٠مرة مثل المستويات المتوقعة من BT فى مرقد الاستكوزا بعد الرش الجوى بالمعدلات الموصى بها. لقد وجد أن الجمبرى A.salina فقط حساس للبكتريا BT فى هذه الدراسة وكان التركيز النصفى القاتل LC50 من ٦٥ مللجم/لتر. المكونات الخاملة من المستحضر قد تساهم فى معدلات الوفاه حيث أن نسب الموت نقصت بعد ازالة هذه المكونات الخاملة من معلق الاختبار.

جـ- تأثيرات كائنات التربة Soil organisms: جراثيم BT كورستاكى تكون ثابتة فى الاراضى حتى سنة أو ما يزيد. اذا كانت الظروف ملائمة قد يحدث نمو خضرى وقد يزداد عدد الخلايا فى التربة بشكل كبير. مستويات الجراثيم تنقص بسرعة فى الشهور القليلة الاولى بعد استخدام بكترياBT وتظل ثابتة لعدة شهور بعد ذلك. الدلتا- اندوتوكسين البللورية يعتقد أنها تنهار بواسطة الكائنات الدقيقة فى التربة فى خلال ١-٣ شهور. فى دراسات مبكرة تم تعريض دودة الارض Lumbricus terrestris تربة تحتوى على ١-١٠% (وزن/ وزن) ثوروسيد 30B أو 50B لمدة شهرين ووصلت نسبة الموت الى ١٠٠%. الموت قد يرجع الى معدلات الاستخدام العالية وتعفن الدم Septicemia أو الى البيتا- اكسوتوكسين الممكن تواجده فى المستحضرات. لقد استخدم الباحثان Benz and Altwegg (١٩٧٥) مستحضر دايبيل مسحوق قابل للبلل على الارض بمعدلات ١، ١٠، ١٠٠ مرة مثل المعدلات الموصى بها (٦٠، ٦٠٠، ٦٠٠٠ مللجم/م٢) والباكتوسبين بمعدل٣٠ جم/م^{٢} فى قطع تجريبية حقلية صغيرة. خلال شهرين اختبار لم تلاحظ أية تأثيرات معاكسة على مجموع دودة الاض فى الارض المعاملة كما لم تسجل ديدان حية أو مريضة فى المناطق المعاملة. لقد تم تقييم Enterobacterin فى الأصص المملوءة بالتربة فى المعمل بمعدلات ٠,٢ وحتى ٢%. لم يسجل خفض فى فترة معيشة ديدان الارض بعد ١١٠ يوم ولو أن نشاط الديدان انخفض فى الأصص المعاملة. مستويات مفصليات الارجل الدقيقة (الاكاروس والكلومبولا) انخفضت بمقدار مرتان الى عشر مرات بعد المعاملة.

د- **التأثير على الكائنات الارضية Terrestrial organisms**: على المجموع الخضرى تكون جراثيم وبللورات BT ثابتة لفترات قصيرة نسبيا. لقد وجد سلامة وأخرون (١٩٨٣) أن الجراثيم لها نصف فترة حياة بين ٧٥-٢٥٦ ساعة على أوراق القطن وليس هذا بسبب الحرارة المرتفعة ولكن ترجع الى تأثير الاشعة فوق البنفسجية. الدلتا- إندوتوكسين البللورية لبكترياBT كورستاكى يفقد الفاعلية ضد حشرات حرشفية الاجنحة بعد ٤٠ ساعة من التعرض لضوء الشمس. هذا على خلاف الثبات الطويل فى بيئات الماء العذب.

١- **حشرات متساوية الاجنحة Orthoptera**: من الاهتمام الوقوف على أن المفترسات الحشرية النافعة قد تصبح مسممة intoxicated أو معدية عندما تتغذى على افات حشرية تناولت جراثيم BT و/أو البللورات. لقد قام Yousten (١٩٧٣) بتغذية كميات قاتلة من BT كورستاكى ليرقات نطاط الكرنب (ترايكوبلوزيا- نى) وقبل الموت مباشرة قام بتقديم هذه اليرقات للرعاش الصينى (تينوديرا أريديفوليا تحت النوع سينسيز). التقدير الكمى للجرعة التى تم تناولها بواسطة الرعاشات لم يكن ممكنا ومن ثم خلص الباحث أن الرعاشات لم تكن حساسة لمخاليط الجراثيم/البللورات من عائل الحشرة.

٢- **حشرات جلدية الاجنحة Dermaptera**: لقد أجرى الباحث Workman (١٩٧٧) اختبارات معملية على مفترس الحشرات أبو مقص المخطط earwig "لابيديورا ريباريا" على يرقات حرشفية الاجنحة. لقد قام بتعريض أبو مقص الى الدايبيل القابل للبلل الذى استخدم فى التربة بمعدلات تكافئ عشرة مرات المعدل الحقلى العادى ولم يحدث أى وفيات فى المجموعة المعاملة.

٣- **حشرات غير متجانسة الاجنحة Heteroptera**: فى دراسة معملية وجد Hamed (١٩٧٨- ١٩٧٩) أن المفترس "بيكروميروس بيدينس" لم يتأثر عكسيا أو يضار بعد التغذية على يرقات الضحية "يبونوميوتا ايفونيميليس" والتى تغذت على أوراق عوملت بالديبيل قابل للبلل أو الثوروسيد HP. أظهرت العديد من الدراسات الحقلية مع مستحضراتBT التجارية الامان على المفترسات من نصفية الاجنحة. البق Spined stiltbuges "جياسس سينوسس" من المفترسات الهامة على بيض حرشفية الاجنحة خاصة دودة براعم الدخان "H.virescens". فى التطبيقات الحقلية للدايبيل القابل للبلل WP على الدخان أشارElsey (١٩٧٣) الى تحقيق مكافحة فعالة لافات حرشفية الاجنحة دون أية تأثيرات ضارة على الحوريات أو الحشرات الكاملة

J.spinosus خلال شهرى الدراسة. فى دراسة مشابهه فى حقول فول الصويا قد استخدم الدايبيل القابل للبلل ضد دودة البرسيم الخضراء و دودة القطيفة فى الفول ولم تظهر أية تأثيرات معاكسة لبكتريا BT كورستاكى على مفترسات عائلات Nabidae (damsel bugs و Nabis) أو bigeyed bug Lygaeidae. لقد أجرى Harding وأخرون (١٩٧٢) دراسة لمدة سنتان على القطن لتقييم تأثيرات نفس تحت أنواع البكتريا على الاعداء الطبيعية لدودة اللوز H.zea على القطن. بعد تطبيق المستحضر الميكروبى ضد هذه الافة بمعدلات ٦-٢٤رطل/أكر لم يسجل تأثيرات ضارة على المفترسات من عائلة minute pirate bugs (Geocoris ssp orius sp) وعائلات Anthocaridae أو Nabidae Reduviidae (assassinbugs) بعد رش الغابات بالثوروسيد والدايبيلWP ضد دودة أوراق البلوط "هيتير و كامبا مانتيو".

٤- **حشرات غمدية الاجنحة** Coleoptera: لقد قام سلامة وزكى (١٩٨٣) بتربية يرقات دودة ورق القطن على غذاء يحتوى علىBT تحت النوع entomocidus ثم تم تغذية هذه اليرقات بواسطة خنافس ستافيليند البالغة "الحشرة الرواغة". لم تتأثر طول فترة حياة المفترس ولم تسجل أية اختلافات فى قبول الضحية بين اليرقات غير المعاملة وتلك التى تعرضت للوسيلة الميكروبية. فى دراسة أخرى قام سلامة وأخرون (١٩٨٢) بمعاملة المن بمحلول bt انتروموسيدي ثم قدم هذه الحشرات المعاملة ليرقات أبى العيد حديثة الفقس بالتغذية على المفترس المعامل. هذا ولو أنه بينما ازدادت فترة دوام يرقات المفترس فى مجموعة المعاملة بالبكتريا BT انتوموسيدس الا أنه لم يحدث خفض واضح فى استهلاك الضحية. من هذه البيانات اتضح أن الخنافس قادرة على التمييز بين سطح الضحية المعامل بالوسيلة الميكروبية وأن هذه الضحية قد تنتج مادة طاردة للتغذية أو طاردة فى خنافسها المفترسة. خلافا لهذا الوضع فان مفترسات أبى العيد غير قادرة على تمييز الضحية التى تناولت BT انتوموسيدس.

فى دراسة معملية وحقلية صغيرة مع واحد من مفترسات كارابيدى وهوBembidion Lampros وجد الباحث أن الدايبيل مسحوق قابل للبلل أحدث تأثير ضعيف جدا على الخنفساء. لقد تم تقييم الفاعلية بالملامسة للثوروسيد HPC على المفترس "هيبوداميا كونفيرجنس" ولم تتضح أية حساسية بعد خمسة أيام عندما عوملت بمستويات تكافئ المعدلات الحقلية. فى الحقل تم استكشاف مجاميع الخنفساء للوقوف على حساسيتها لرشBT على المحاصيل المختلفة. كمثال قام جونسون

(١٩٧٤) بتقييم العديد من المستخضرات التجارية على صورة رش أو طعوم على الدخان. مجاميع نوعى H. convergens وغيرها فى أبى العيد "كوليوميجيلا ماكولاتا" ووجد عدم تأثرها بالمعاملة الميكروبية خلال سنتى الدراسة. لقد وجد Asquith (١٩٧٥) أن خنفساء أبى العيد الاسود S. punctum لا تتأثر بمخلوط الدايبيل قابل للبلل والجوثيون على أشجار التفاح لم يحدث خفض فى مستويات مجاميع خنافس أبى العيد فى القطع التجريبية التى عوملت بالدايبيل وغيرها فى الدراسات الحقلية. لقد أشار بعض البحاث الى أن المستحضر التجارى Bitoxibacillin قد يسبب موت لأبى العيد C. septempunctata إلا أن هذا التأثير القاتل يرجع الى وجود BT بيتا- اكسوتوكسين فى هذه المستحضرات وليس البكتريا أو الدلتا- اندوتوكسين البللورى.

٥- **حشرات شبكية الاجنحة** Neuroptera: يرقات Lacewing المسماه "كريزوبا كارنيا" من المفترسات الهامة على الحشرات وقد قام العديد من الباحثين باختبار خساسية هذا النوع لمنتجاتBT. لقد وجد Wiltinson وأخرون (١٩٧٥) أن الثوروسيد HPC بمعدلات الحقل الموصى بها لم يؤثر على الحشرات الكاملة أو يرقات هذا النوع عندما استخدمت كرش ملامس. لقد خلص Hassan (١٩٨٣) أن الدايبيل غير ضار للحشرات البالغة من المفترس C. carnea عندما عرضت لإفلام جافة عند التركيزات الموصى بها. لقد قام Salama وأخرون(١٩٨٢) بتقييم تأثيرBT انتوموسيدس على يرقات C. carnea بوضعها مع قش مرشوش و يرقات دودة ورق القطن المعاملة. عندما تغذت على دودة ورق القطن المعاملة طالت فترة تطور اليرقة بشكل كبير كما حدث خفض كبير فى استهلاك الضحية. لقد حدث نفس الاتجاه مع يرقات المن المرشوشة مما يوضح تأثير مانع للتغذية أو تأثير طارد.

٦- **حشرات ثنائية الاجنحة** Diptera: لقد وجد حامد (١٩٧٨- ١٩٧٩) أن نوعى التاكينيد Tachinid (Bessa fugax و Zenillia dolosa) لم يتأثر بعد التغذية على معلقات الدايبيل التى تحتوى على $٥x١٠^{٨}$ جراثيم لكل ملليلتر. لقد لاحظ Horn (١٩٨٣) خفض فى أعداد برقات السيرفيد على الكرنب Collards المرشوش بالدايبيل قابل للبلل وقد يكون ذلك راجعا الى التأثير الطارد على الحشرات الكاملة. الملاحظات الحقلية عن تأثيرات تطبيقات BT على مختلف حشرات ثنائية الاجنحة لم تظهر أى تأثير معاكس على النسبة المئوية للتطفل. فى تقييم الرش الجوى للثوروثيدHPC فى مكافحة الفراشة الغجرية ودودة الاوراق لم يسجل أى تأثير

معاكس لنوعى التاكينيد. لقد أشار الباحث Fusco (١٩٨٠) الى زيادة التطفل بواسطة التاكينيدى.

٧- **حشرات غشائية الاجنحة – نحل العسل** Hymenoptera: الدراسات الاولى التى استخدم فيها شغالات عديدة فشلت فى اثبات أى نشاط لبكترياBT ضد الاطوار غير البالغة والكاملة من نحل العسل.

لقد قام Martouret and Euvert (١٩٦٤) بتغذية شغالات النحل لبكترياBT تحت النوع ثورينجينسيز الموجودة فى مخاليط السكر والعسل والصلصال. لقد حدث موت كامل خلال سبعة أيام مع تحضير الجراثيم- بللورات الاكسوتوكسين وبعد ١٢يوم لمعقد الجراثيم – بلورات فقط. لقد أشار بحاث اخرين أنه بالرغم من أن الخلايا الخضرية لبكتريا BT لم تحدث ضرر على النحل الا أن مستحضراتها تحتوى على بيتا- اكسوتوكسين. لقد قام Cantwell وأخرون (١٩٦٦) بتغذية النحل على محاليل سكرية تحتوى على جراثيم BT تحت النوع ثورينجينسيز (٦٧ و ١٠x١,٦٧٢^٩ لكل نحلة) والرائق ٢,٥ مللجم لكل نحلة) وبلورات (٠,٥ وحتى ١٠x١٦^٦ لكل نحلة) وكذلك بلورات تحت النوع اليستى وسوتو (كلاهما ١٠x٠,٥^٦ لكل نحلة). لقد فشلت الانواع الثلاثة من البللورات فى احداث ضرر على النحل ولكن البيتا- اكسوتوكسين (الرائق) أعطى١٠٠%موت تقريبا بعد ٧ أسابيع. لقد سجل موت عالى فى المعاملة بالجراثيم بعد ٨ أيام. هذا قد يرجع الى تتابع فى تعفن الدم Septicemia. لقد كانت الجرعات عالية بمرات عديدة عما يتعرض له النحل فى برامج مكافحة حرشفية الاجنحة.

لقد تم تغذية المزارع الكلية غير المتجرثمة منBT تحت النوع ثورينجينسيز وتحت النوع كورستاكى بواسطة حشرات نحل العسل البالغة. لقد وجدت حالات وفاة فى النحل بسبب البيتا- اكسوتوكسين فى مزرعةBT ثورينجينسيز بينما لم يحدث موت فى المزارع التى فيها توكسين الحرارى thermolabile والذى قد يكون جاما- اكسوتوكسين. حيث أن هذا التوكسين يفقد نشاطه خلال التجرثم فانه لا يكون ذت اهتمام فى المنتجات التجارية المتجرثمة. عندما تمت التغذية على مزارع كاملة التجرثم من تحت النوع BT كورستاكى لحشرات نحل العسل البالغ بركيزات جراثيم ١٠x١^٨ + البللورات لكل نحلة على امتداد ٧ أيام لم تسجل أية تأثيرات مرضية مع كلا المستحضرين.

بكتريا BT تحت النوع جاليرى فعال ونشط ضد حرشفيات الاجنحة وأخر أثبت نجاح على المستوى التجارى فى مكافحة دودة الشمع (Galleria spp) المرتبطة بخلايا النحل. يمكن رش هذه البكتريا على سطح أقراص العسل أو غرسها فى الشمع. مع هذه الطرق توجد فرصة بسيطة للكائنات غير المستهدفة بخلاف نحل العسل كى تصبح فى تلامس مع هذه البكتريا. لقد قام Cantwell and Shieh (١٩٨١) بتغذية تخفيف ٢٠:١ منBT جاليريا فى محلول سكروز ٤٠%للنحل البالغ حديث الفقس. بعد ١٤ يوم لم تسجل اختلافات فى الوفيات بين المجاميع المعاملة وغير المعاملة. لم تظهر أية تأثيرات معاكسة على الشغالات البالغة أو حياة الخلية المعاملة عندما قدرت من خلال وضع البيض وانتاج الحضنة وتغطية عيون الحضنة وانتاج العسل. لقد أشار الباحث Burges (١٩٧٦) الى أن جراثيم تحت النوع هذا قد تظل حية فى العسل لفترة غير محدودة. بسبب تحملها لبكتريا فان نحل العسل لا يبدو أنه يتأثر بواسطة هذا الثبات. لقد أشار Buckner وأخرون (١٩٧٤) فى كندا عدم حدوث تأثيرات معاكسة على نحل العسل بعد الرش الجوى بالدايبيل مسحوق قابل للبلل والثوروسيد 16B.

٨- **حشرات غشائية الاجنحة- أشباه الطفيليات Hymenoptera- parasitoids**: أشباه الطفيليات الحشرية تعتبر منظمات هامة جدا لمجاميع الآفات الحشرية وقد اختبرت بشكل كثيف لمعرفة حساسيتها للباسيلليس ثورينجينسير. فى دراسات التغذية على معلقات هذا الكائن الدقيق تم تسجيل وفيات فى بعض الانواع. لقد قام Krieg وأخرون (١٩٨٠) بتغذية الجراثيم المغسولة وبللوراتBT تحت أنواع ثورينجينسيز وكورستاكى ($5x10^7$ جراثيم+ بلورات لكل ملليلتر) الى الترايكوجراما كالوسيا البالغة ولم يلاحظ أى موت أو نقص فى المقدرة على التطفل بعد ٧ أيام من التغذية. عندما قام Hassan and Krieg (١٩٧٥) بتغذية معلقات الباكتوسبين أو الدايبيل أو الثوروسيد لحشرات الترايكو جراما عند نفس المستويات لم تشاهد أية تأثيرات ضارة فيما مع معاملة الباكتوسبين والتى أحدثت نقص فى القدرة على التطفل. هذا قد يرجع الى البيتا- اكسوتوكسين فى الباكتوسبين. لقد لاحظ بعض البحاث فترة بقاء ومعيشة أقل فى حشرات Hyposotea exiguae البالغة والتى تغذت على معلقات دايبيل (٢مللجم/ملليلتر). لقد خلص البحاث الى أن الموت قد يرجع الى معقد بلورات الجراثيم. لقد أجرى Muck وأخرون (١٩٨٢) اختبارات مشابهه مع الدايبيل مسحوق قابل للبلل على الحشرات البالغة كويتسيا جلوميراتا، بيمبلا تريونيلا ولم تسجل أية

وفيات فى ك. جلوميراتا بمعدلات١٠^٨- ١٠^٩جراثيم لكل ملليلتر ولكن لوحظ قليل من التأثير عند أى معدل على البمبلا. لقد أشار الباحثين الى تحطم الغشاء الطلائى للمعى الاوسط فى البمبلا مع التركيز الاعلى بسبب الدلتا- اندوتوكسين. لقد قام Dunbar and Johnson (١٩٧٥) بجمع الحشرات الكاملة كارديوشيلس نيمبرسيبس فى الحقل وتم تغذيتها على معلقات الدايبيل القابل للبلل والبيوترول (XK and WP). لقد لاحظ الباحثان قصر فترة الحياه فى المجموعة التى تغذت على BT ولكن لم يكن هناك تأكيد على أن التغذية التى قد حدثت فعلا. تجنب الطعام والتجويع قد تكون أسباب الوفاة.

أشباه الطفيليات قد تتجنب أو تطرد بعد التغذية بواسطة هذه المستحضرات. بينما لاحظ Hassan (١٩٨٣) أن الترايكوجراما كاكوسيا لم تتأثر من جراء التعرض لافلام السطوح الجافة من BT ثورينجينسيز والكورستاكى فان الحشرات الكاملة تم طردها بواسطة مستحضرات الباكتوسبين والدايبيل فى اختبارات الاختيار Choice tests. وجد باحث آخر عدم حدوث نقص فى النسبة المئوية لتطفل المن بواسطة دياريتيلا رابيا على الكرنب المعامل بالدايبيل مسحوق قابل للبلل. تسمم يرقات العائل بواسطة المستحضرات الميكروبية هذه قد تجعلها أقل جذبا للحشرات الكاملة من أشباه الطفيليات. لقد لاحظ سلامة وزكى (١٩٨٣) أن زيلى كلوروفثالاما خفضت من مستويات تطفل يرقات دودة ورق القطن المسممة بالبكتريا ووجد ان هذه اليرقات أصبحت أقل قبولا لدبور "براكون بريفيكورنس" لقد وجد أن اناث C. melanoscelus لم ترغب فى يرقات العائل المسمم بعد ٣ أيام من المعاملة ولكنها كانت قابلة لفعل ذلك بعد ١٠ أيام.

على العكس من هذه النتائج كان Dunbar وأخرون (١٩٧٢) أول من أشار الى زيادة فى النسبة المئوية لتطفل الفراشة الغجرية ويرقات دودة الدردار فى الغابات التى عوملت بالثوروسيد HPC. لاحظ بعض البحاث عدم حدوث أية تأثيرات معاكسة على أشباه الطفيليات بعد المعاملة مع الدايبيل WP والثوروسيد فى مكافحة فراش نوتودونتيد H. manteo لقد أشار Fusco (١٩٨٠) الى زيادة فى النسبة المئوية للتطفل ليرقات الفراشة الغجرية بواسطة C. melanoscelus و P. unicineta بعد الرش الجوى بالدايبيل 4L. لقد خلص الباحث أن هذا يرجع الى زيادة كثافة يرقات العائل بالحجم المناسب مما أدى الى اقتراح حدوث تنشيط بينBT و C. melanoscelus. لقد أكد باحثون أخرون التنشيط فى اختبارات المعمل مع يرقات

الفراشة الغجرية التى تغذت على الدايبيلL4 وتعرضت للطفيل سى ميلانوسيلليس. لقد ازدادت النسبة المئوية للتطفل فى اليرقات المسممة بالبكتريا حتى أنها نمت ببطئ وكانت بالحجم المناسب للتطفل على مدى فترة طويلة من الوقت. لقد تحصل على نفس النتائج فى المعمل مع روجاس ليمنتريا وعوائل الفراشة الغجرية التى تغذت علىBT كورستاكى. فى حالة الروجاس بينما كانت النسبة الجنسية لأشباه الطفيليات تميل ناحية انتاج ذكور أكثر فى اليرقات المعاملة حيث أن الاناث تضع بيض مخصب أكثر فى يرقات العائل الاكبر. تطبيق هذه النتائج فى الحقل وجد Weseloh وأخرون (١٩٨٣) زيادة من٦ الى١٢ مرة فى النسبة المئوية لتطفل يرقات الفراشة الغجرية بواسطة C. melanoscelus فى القطع التجريبية فى الغابات المعاملة ببكترياBT. لقد وجد Hamel (١٩٧٧) أن أشباه الطفيليات التى تهاجم الاطوار المبكرة من يرقات دودة البراعم ازدادت فى العدد بعد الرش الجوى للدايبيلWP أما أشباه الطفيليات فى يرقات دودة البراعم الكبيرة فى العمر نقصت فى العدد. لم يؤدى الرش الموسع لبكترياBT كورستاكى الى حدوث أية تأثيرات معاكسة فى مجاميع أشباه الطفيليات.

يرقات شبيه الطفيل التى تطورت داخل يرقات العائل المسمم ببكترياBT كانت ذات فترة تطور طويلة فى بعض الحالات. لقد أشار سلامة وزكى (١٩٨٣) الى فترات تطور زيادة فى الطول مع شبيه الطفيل Zele Chlorophathalme فى دودة ورق القطن المعاملة بالكائن الدقيق. لقد سجلت فترات تطور يرقى طويلة نسبيا مع سى ميلانوسيلليس التى تطور فى يرقات الفراشة الغجرية المعاملة بالدايبيل. هذه النتائج فى توافق مع ما وجده Tamerak(١٩٨٠) من أن يرقات العائل المسممة ببكترياBT ليست مناسبة غذائيا لأشباه الطفيليات سواء كانت يرقات أو حشرات كاملة حيث أن الحشرة الكاملة لدبور البراكون بريفيكورنس التى تغذت على سوائل الجسم قصرت فترة تطورها. لقد أشار حامد الى تأثيرات سامة فى أربعة أنواع من أشباه الطفيليات التى تغذت على سوائل جسم العائل المعدى بكترياBT وهى ديادجما أرميلاتا, بمبلا تريونيلا، أجينيا سبيس، تتراستيكس اثيمونيميللا. على العكس من ذلك وجد Hassan (١٩٨٣) أن تطور الترايكوجراما اكوسيا لم تتأثر عندما تم غمس بيض العائل فى معلقات BT بعد التطفل. فى يرقات العائل التى تناولت جرعات كبيرة منBT كانت تتابع تطور شبيه الطفيل هو الموت بسبب موت العائل قبل الاوان أو قبل النضج فى العائل غير الناضج H. exiguae.

٩- **الأكاروسات Acarina**: لقد قام Krieg بتعريض العنكبوت الاحمر ذات النقطتان "تترانيكس يورتيكا" على المجموع الخضرى المعامل بمستحضر الثوروسيد "من الانتاج المبكر ١٩٦٦" وقد سجل حدوث وفيات كبيرة بسبب احتواء المستحضر على بيتا- اكسوتوكسين. تحت الظروف الحقلية لم يضار الاكاروس من جراء الرش بمستحضرات BT كورستاكى. لقد أشار Weires and Smith (١٩٧٧) الى أن رش التفاح بالدايبيل خلال٤ شهور الموسم لم تؤثر على الاكاروسات T. urticae و P. Ulmi أو على نوعى المفترسات مثل A. fallacis ، Z. mali.

(٣) البيتا- اكسوتوكسين فى الباسيلليس ثورينجينسيز B- Exotoxin

الثورينجينسيز Thuringiensin أو البيتا- اكسوتوكسين عبارة عن ناتج تمثيل metabolite يذوب فى الماء وثابت فى الحرارة حيث يوجد فى بعض سلالات بكترياBT. الاكسوتوكسين عبارة عن نيوكلوتيد 701- KDa يحتوى الادينين والجلوكوز وحامض الألااريك allaric. ولو أن انتاج الاكسوتوكسين من الناحية التاريخية كان مرتبطا ببيض تحت أنواع BT خاصة تحت النوع ثورينجينسيز، جليريا، دارمستادينسيز الا أن انتاجه فى هذه السلالات وغيرها يعتمد على بيئة النمو. فى الولايات المتحدة الامريكية يجب أن تكون المنتجات التجارية لهذا الكائن الدقيق خالية من الاكسوتوكسين كما يتأكد من خلال التقييم الحيوى على الذباب المنزلى. التوكسين Thuringiensin نفسه ما زال تحت التطوير كمبيد حشرى تجارى.

أ- **كيفية احداث الفعل** Mode of action: كيفية احداث فعل الثورينجينسين فى النظم الحيوية تتمثل فى تثبيط انزيماتRNA بوليميريز التى تعمل بالتنافس مع الادنيوزين تراى فوسفاتATP. فى الثدييات أظهر الثورينجينسين فعل تفضيلى فى منع تخليقRNA الريبوسومى. فى نطاط الكرنب "ترايكوبلوزيا- نى" أدى الحقن بالثورينجينسين الى تثبيط غرس المركب المعلم اشعاعيا فى بروتين الرنا والدنا. حيث أن تخليق الرنا يعتبر من العمليات الحيوية طوال فترة الحياة فان الاكسوتوكسين يحدث السمية فى كل صور الحياة المختبرة. فى الثدييات فان الموقع الاولى للفعل يحتمل أن يكون الكبد. فى الغالب يتأخر الموت حتى بعد الحقن المباشر لجرعات مكثفة. الجرعات المنخفضة القاتلة تظهر فترات تأخير طويلة.

فى الحشرات اتضح أن الاكسوتوكسين يحدث الموت ويخفض من دوام المعيشة ويثبط التكاثر ويعمل كمادة محدثة للتشوهات الخلقية Teratogen ومانع للتغذية

Feeding deterrent. التأثير السام للثورينجيسين يكون واضحا فعالا فى اليرقات كاملة الانسلاخ (حشرات كاملة التطور) holometabolous فى وقت التعذر. المادة سامة كذلك حتى مع الحشرات ناقصة التطور أوhemimetabolous خاصة عند وقت الانسلاخ. فى العادة يتأخر وقت الوفاة وهو قد يكون راجع الى دور ووظيفة طول فترة الحياة. يحدث الموت فى الحشرات البالغة عند المستويات العالية من الجرعة فقط. أظهرت ديدان اللوز والديدان القارضة خفض فى الخصوبة وطول فترة الحياه ولو أن دوام معيشة الديدان القارضة نقصت فقط مع الجرعات العالية. لقد كان للاكسوتوكسين تأثير البيض واحداث تثبيط فى تطور اليرقة التى فقست واحداث موت مع الانسلاخ الاول بسبب النفادية المباشرة داخل البيض (سوف أضع هذه الجملة بالانجليزية ردا على من يؤكدون أن مستحضرBT المصرى المسمى أجرين يقتل بيض دودة ورق القطن ففى ذلك دليل على احتوائه على البيتا- اكسوتوكسين المحظور).

Exotoxin also has an effect on the egg, inhibting larval development of hatching and producing mortality at first molt apparently by direct penetration into the egg.

التأثير الخاص بالتشوه الخلقى غير القاتل Sublethal teratogenic للمركب ثورينجينسين لوحظ فى رتب عديدة من الحشرات كاملة التطور مثل ثنائية وغمدية وحرشفية الاجنحة.

ب- **العوامل التى تؤثر على السمية:** بوجه عام أظهر ثورينجينسين سمية أقل كثيرا عن طريق المعاملة الفمية orally بالمقارنة بالطرق المباشرة للدخول فى كلا الثدييات والحشرات. هذه الظاهرة ربما ترجع الى وجود كميات كبيرة من الفوسفساتيزيس المحللة فى خلايا أمعاء الثدييات والحشرات. الاختلاف فى السمية بين المعاملة المباشرة وتلك عن طريق الفم كانت فى رتبة ٦٠ - ١٠٠%فى الثدييات وقد تكون أعلى حتى٢٥٠ فى الحشرات. الاختلافات فى معدل الازالة elimination قد تساهم كذلك حيث أن الانواع الاقل حساسية مثل الفئران تقوم بتصفية وهدم الثورينجينسين بسرعة أكثر عن فراشة الشمع الحساسة "جاليريا ميلونيللا" الاختلافات فيما بين الانواع فى حساسية تحضيرات بوليميريزRNA للثورينجينسين تأكدت بين الجرذان وذبابة اللحم "ساركوفاجا بولاتا". على نفس المنوال فان الاختلافات فى حساسية الانزيم اقترحت كمسبب للاختلاف بين حساسية الحشرة الكاملة واليرقات

كما ذكر أعلاه. لقد خلص البحاث الى ان الثورينجينسين سام بوجه خاص على الحشرات كاملة التطور خلال الانسلاخ عندما يكون نشاط RNA بوليميريز المنشط مع هورمون الانسلاخ الحساس للثورينجينسين عاليا.

جـ- السمية على اللافقاريات غير المستهدفة: لقد أجرى القليل من الدراسات عن سمية الثورينجينسين للافقاريات غير المستهدفة NTO's. معظم البيانات المتوفرة تتضمن السمية على انواع الحشرات النافعة المرتبطة بالافات المستهدفة خلال تجارب التطوير التجارى. حساسية مفصليات الارجل للثورينجينسين درست باستفاضة وكانت تتعرض معظم الافات الحشرية. من هذه الدراسات المرجعية خلص البحاث الى ان الثورينجينسين ليس له درجة عالية من الاختيارية Selectivity بين الحشرات حيث كانت معظم الانواع التى اختبرت فى المعمل حساسة للمنتج. التقييم الكمى للحساسية من الصعوبة بمكان حيث أن معظم التجارب استخدمت بيئات تحتوى على الثورينجينسين بدون التقدير الكمى لجرعة البيتا- اكسوتوكسين. بسبب أن البيئة تؤثر على مقدرة سلالةBT على انتاج البيتا- اكسوتوكسين وكذلك الكمية الناتجة من هذا التوكسين فان المقارنات المباشرة للحساسية من الصعوبة بمكان. علاوة على ذلك فان المستحضرات التى وصفت قبلا على أنها نقية Pure قد تحتوى على١٠-٢٠%اكسوتوكسين عندما قدرت بواسطة طرق التحليل الاكثر حداثة وتقدما كما أن التجهيزات التى قد تحتوى على أكثر من توكسين واحد واردة. يوجد دليل على أن أكثر من توكسين ثابت فى الحرارة ينتج بواسطة ثلاثة تحت أنواع مختلفة من بكترياBT بناء على السمية المختلفة تبعا للحساسية للحرارة كما أمكن عزل العديد من المكونات السامة المتميزة بواسطة جهاز HPCL.

١- البلانكتون الحيوانية فى المياه العذبة Freshwater Zooplankton:

لقد أختبر مستحضر الثورينجينسين على الدافنيا ماجنا وكانت التركيزات النصفية LC50 خلال٢٤- ٤٨ ساعة أكبر من ١٥،٦،٣مللجم/لتر على التوالى. لم تسجل تأثيرات شاذة فى الدافنيا بعد٢٤ ساعة مما يعكس الفعل المتأخر للثورينجينسين. حيث أن الثورينجنسين ثابت ضد التحلل المائى فان سمية أكبر قد تحدث فى نهاية الفترة. هذه القيم للتركيزات النصفية القاتلة LC50 توضح أن الثورينجينسين بعد٢٤ ساعة ليس عالى السمية على الدافنياماجنا. حيث أن المعدلات المستخدمة فى الحقل فى المكافحة منخفضة بوجه عام (٤٠-٦٠ جم/أكر) وأن الثورينجينسين ليس عنده مقدرة

على الحركة فى البيئة ببب الارتباط القوى على سطح التربة فانه لا يتوقع حدوث أية تأثيرات على مجموع الدافنيا من جراء الاستخدام الحقلى والميدانى للثورينجينسين.

٢- كائنات الأعماق المائية Benthic Aquatic Organisms

لقد لاحظ بعض الباحثين أن الثورينجينسين غير سام لانواع Tubifex spp فى تجارب أولية غير واضح فيها طريقة المعاملة. لسوء الحظ لا توجد بيانات أخرى متوفرة عن الارتباط العالى للثورينجينسين فى التربة وبسبب المعدلات المنخفضة للاستخدامات التجارية للمركب فانه لا يحتمل حدوث تأثيرات ضارة على هذه الكائنات بين فتات الصخور والتربة.

٣- الكائنات الأرضية Terrestrial Organisms:

أ- **حشرات ذات الذنب القافز** Thysonoptera: فى دراسة معملية لم تلاحظ أية تأثيرات ضارة على مفترس العنكبوت الاحمر Scolothrips sexmaculatus بعد ٢٨ يوم من المعاملة بمعدل ٢٠جم/أكر. لقد حدث خفض كبير فى المجموع بعد ١٤ يوم مع معدل ١٠جم/أكر من الثورينجينسين (واحد من المستحضرين) وحدث استرجاع للمجموع بعد ٢١ يوم.

ب- **حشرات غير متجانسة الاجنحة** Heteroptera: لم تلاحظ أية تأثيرات على أنواع Geocaris spp فى حقول القطن المعاملة بمعدل ٤٥جم/أكر. كذلك لم تلاحظ أية تأثيرات على Nabis spp فى التجارب الحقلية عند معدلات أعلى من ١٥٠جم/هكتار. بوجه عام لم تعتبر حشرات نصفية الاجنحة حساسة للثورينجينسين حيث ثبت أن هذه المستويات ذات سمية عالية لأنواع الليجس. لقد أشار Sanford (١٩٨٥) أن استخدام الثورينجينسين على التفاح لم يؤثر على فقس مفترس mirid "اتراكتوس مالى" بعد ٣٠ يوم من المعاملة بمعدل١٦جم/١٠٠لتر. التجارب الحقلية على البق المفترس "أوريس تريستيكلر" أظهرت عدم تأثره باستخدام الثورينجينسين حتى ٨٠مم/أكر. أجريت دراستان عن امكانية تأثير الثورينجنسين على البق الواخز ذات البقعتان "بيريلليس بيوكيولاستى" حيث أنه يتغذى على يرقات خنفساء كلورادو البطاطس المعاملة. لم يحدث أى تأثير على يرقات العمر الثالث التى تغذت على جثث خنفساء الكلورادو المسممة بالثورينجينسين سواء على دوام المعيشة أو نضج الحشرة غير متجانسة الاجنحة. كذلك لم تحدث أية تأثيرات على يرقات العمر الرابع التى تغذت على خنافس كلورادو البطاطس المريضة أو يرقات العمر الثالث التى تعرضت لكلا يرقات الخنافس والمجموع الحضرى المحتوى على محلفات الاكسوتوكسين.

جـ- **غمدية الاجنحة** Coleoptera: لم تتأثر مجاميع Hippodamia spp بمعدل ٤٠ جم/ أكر ثورينجينسين عندما استخدمت على البرسيم وهو المعدل الذى يحقق مكافحة اقتصادية للآفات الحشرية. فى نفس الدراسة :تضح أن خنافس nitulid "ميليجيسيز نيجريسنس" كانت حساسة للمعاملة عند معدلات أقل من ١٠جم/أكر.

د- **غشائية الاجنحة** Hymenoptera: غالبة الدراسات عن سمية الثورينجينسين على الكائنات غير المستهدفة NTO's اشتملت اختبارات على نحل العسل "ابيس ميلليفيرا". أظهرت هذه الدراسات تأثيرات قاتلة على نحل العسل عندما وجد الثورينجينسين فى مصدر الطعام حيث تأخر موت اليرقات والحشرات الكاملة كما لوحظ معدل موت عالى بعد ٥،٣ أيام على التوالى عند الجرعات التى تعطى٩٠-١٠٠ موت. لقد كان الاكسوتوكسين قاتلا كذلك ليرقات نحل العسل ولكنه لم يؤثر على خروج الحشرات الكاملة حيث أن جميع اليرقات التى داومت المعيشة استكملت الحياه بشكل عادى. لم تسجل أية تشوهات خلقية Teratogenic على نحل العسل. مستعمرة من ١٠٠ألف نحلة تم معاملتها بمعدل٢٠٠مللجم رائقBT عانت من الوفاة بشكل كامل. لقد أثرت المادة على اليرقات والعذارى و الحشرات الكاملة. لقد وجد Vandenberg and Shimanuki (١٩٨٦) أن جرعة ٠,٠٠٢ مللجم لكل نحلة كانت فعالة فى خفض دوام معيشة النحل البالغ الذى تغذى على مستحضرات جراثيمBT الخالية من الثورينجينسين تخفيفات مستحضرات الاكسوتوكسين كانت سامة فى الغذاء أو بالملامسة عندما وضعت فى أو مع نحل العسل فى الاقفاص. لقد لوحظ النشاط الملامس فقط مع أكثر التخفيضات تركيزا (١٠٠ مرة أكثر تركيزا عن المستويات الخاصة بالسمية عن طريق الفم طوال فترة الحياة ولكنها مشابهه لمستويات التى تؤثر على نصف فترة الحياة LT50 بواسطة جرعة فردية عن طريق الفم). لقد وجد Atkins (١٩٨٥) أن مستويات ٠,٠٥٤ جم لكل نحلة لم تحدث القتل فى النحل البالغ فى الاقفاص بعد ٧٢ ساعة عندما أجرى الرش عليها على صورة مسحوق تعفير كاؤولين. لقد اشار الباحث Mayer (١٩٨٥- أ) أن النحل البالغ فى الاقفاص لم يتأثر عندما سمح له الوجود مع المجموع الخضرى للبرسيم لمدة ٢٤ ساعة ثم جمع بعد ٢-٨ ساعات من المعاملة بمعدل٤٠ جم/أكر ثورينجينسين. هذه التجربة يجب أن تكرر لفترات طويلة للوقوف على التأثير المتاخر.

أظهرت الدراسات الحقلية أن التخفيف البيئى وعادات التغذية فى نحل العسل تقدم حماية من استخدام الثورينجينسين التجارية فى احدى التجارب على البرسيم

المزهر لم تحدث المعاملة بمعدل٤٠جم/أكر ثورينجينسين أية وفيات عن المقارنة من خلال عد النحل الميت فى المصائد خلال ثلاثة أيام من المعاملة. نشاط وطيران النحل البالغ ثم تقييمه كذلك من خلال الملاحظة وتأكد عدم تأثره خلال يومان من المعاملة. لم يؤثر الثورينجينسين على دوام معيشة الحضنة فى الخلايا ولو على تطورها خلال ٦ساعات بعد المعاملة مع أن عدد العذارى كان قليلا. فى دراسة على الذرة السكرية من حيث تساقط حبوب اللقاح وجدت زيادة كبيرة فى أعداد النحل الميت فى المصائد فى اليوم الاول بعد المعاملة بالثورينجينسين بمعدل٤٠جم/أكر بينما كانت الاعداد عادية فى اليوم الثانى والثالث. ما حدث فى اليوم الاول كان وما زال محل تساؤل. فى هذه التجربة لم تسجل أية تأثيرات على النحل السارح و العدد الذى يعود للخلايا حاملا حبوب اللقاح بعد يومان من المعاملة. فى دراسة على النحل القاطع للاوراق Megachile roundata حيث سمح للنحل البالغ فى الاقفاص بالسرحان على البرسيم المعامل بالثورينجينسين بمعدل٤٠ جم/أكر ولم تسجل وفيات بعد ٢٤ ساعة. هذه الفترة غير كافية بسبب عدم امكانية الحكم على حدوث وفيات.

كذلك أظهرت الدراسات على أشباه الطفيليات بوجه عام أن الثورينجينسين لا يحدث أية أضرار على هذه الحشرات النافعة. الطفيل الشبية Edovum puttleri الذى يتطفل على خنفساء كلورادو البطاطس لم يتأثر من التغذية على٧,٥ملجم/ملليلتر تخفيف من الثورينجينسين فى محلول العسل فى الماء مع الحشرات البالغة فى الاقفاص لمدة ١٤ يوم كذلك لوحظ أن مجموع هذا الطفيل لم يتأثر من جراء المعاملة بالثورينجينسين بمعدل ٣٠جم/أكر فى الحقل.

تم دراسة حساسية شبية الطفيل Trixys Pallidus من Aphidid (braconid) والوارد من فرنسا الى كاليفورنيا للمساعدة فى مكافحة من اللوز "كروم أفيس جاجلانديكولا" للثورينجينسين. لقد وجد أن الثورينجينسين بمعدل٢٢جزء فى المليون لم يسبب أية وفيات فى شبيه الطفيل البالغ بالملامسة أو عن طريق خفض التطفل عندما تم التعريض خلال التناول. المعاملة القيمة بمعدل ٢٢جزء فى المليون ثورينجينسين على عذارى العمر الثالث المتأخر لم تسبب أية تأثيرات على الخروج.

هـ- الاكاروسات Acarina: لقد تم دراسة سمية الثورينجينسين على نوعين من الاكاروسات بواسطة Patterson وأخرون (١٩٨٦). لقد تمت معاملة الاناث البالغة وحوريات خليطة الجنس والبيض للاكاروس المفترس N. fallacis و T. occidentalis بواسطة النقع فى محاليل الثورينجينسين بمعدلات ١٠-١٠٠٠ جزء

فى المليون. لقد تم تقييم الموت بعد ٢٤ ساعة من المعاملة ووصلت قيم الجرعات النصفية القاتلة LD50's الى٣٥،١٥٠ جزء فى المليون لاكاروسات N. fallacis البالغة والحوريات على التوالى فى مقابل ٣٠٠- ٣٥ جزء فى المليون فى أكاروس T.occidentulis البالغ والحوريات. لقد كان هذا النوع أكثر حساسية للثورينجينسين بينما كان أقل حساسية عن ضحية العنكبوت. الملاحظات التى تشير الى أكبر نسبة من الموت خلال عملية الانسلاخ وحساسية الحوريات تتمشى مع ما هو معروف عن كيفية احداث فعل الثورينجينسين.

س- **العناكب** Araneida: فى التجارب الحقلية على البرسيم تم خفض تعداد العناكب عد ٧ أيام من المعاملة بالثورينجينسين بمعدل من ٢٠وحتى ٨٠جم/أكر.

الخلاصة والاستنتاجات : من البيانات المتاحة اتضح أن الانواع النشطة والفعالة التابعة لحرشفية الاجنحة للباسيلليس ثورينجينسيز أحدثت تأثيرات سامة على بعض اللافقاريات. هذه التأثيرات قد ترجع الى: ١- مكونات المستحضر، ٢- معقد الجراثيم- بلورات، ٣- البيتا-اكسوتوكسين.

أ- **المستحضرات** Formulation: المواد الفعالة فى منتجBT التجارى فى الطبيعة ليس محل نقاش فى هذا المقام. مع ذلك فانه يمكن القول أن هذه المواد تظهر سمية على الكائنات غير المستهدفة بناء على نتائج التجارب المعملية والحقلية التى أجريت فى العشرين سنة الاخيرة ولو أنها غاية فى القلة. بناء على ضمان أمان هذه المواد أقرت وكالة حماية البيئة الامريكيةUS. EPA بتسجيلها. يوجد بيانات محدودة عن تقييم تأثيرات المستحضر على الكائنات غير المستهدفة NTO's. أظهرت احدى الدراسات التى أجريت بواسطة الباحث Haverty (١٩٨٢) على الكريزوبا والهيبوداميا مع الدايبيل4L حدوث موت عالى عند مستويات ثمانية مرات أعلى من معدلات الحقل. موت .Artemia لوحظ مع تركيزات تزيد ٣٠٠٠ مرة عن التركيزات الحقلية القياسية. لم يثبت وجود أية علاقة بين التأثيرات على الكائنات غير المستهدفة والمستحضرات. مكونات المستحضر قد يكون لها تاثيرات على بعض المفترسات الحشرية وأشباه الطفيليات فى جعل الضحية أو العوائل المعاملة معBT أقل جذبا عن غير المعاملة. بينما أن هذه تحسن من المكافحة عن طريق تحويل أو توجيه المفترسات وأشباه الطفيليات فى البحث عن الضحية التى تسببت فى

الرش الحقلى كما انها قد تؤدى الى حركة هذه الكائنات النافعة خارج نطاق المساحات المعاملة.

ب- **معقد الجراثيم- البلورات** Spore-crystal complex: التأثيرات الخاصة بمنع التغذية أو تجنب الضحية سجلت مع معقد الجراثيم- البللورات غير المجهزة فى المفترسات وأشباه الطفيليات. فى حالة بعض أشباه الطفيليات فان تجنب العوائل المعاملة ببكتريا BT قد تكون مرتبطة أكثر بالقابلية للكشف عن حالة ضرر أو تلف فسيولوجى عما هو الحال مع الوسيلة الميكروبية نفسها. بعض أنواع المفترسات من رتب شبكية وغمدية الاجنحة أظهرت تطوريرقى طويل بعد تناول الفريسة المعاملة ببكتريا الباسيلليس. كذلك فان أشباه الطفيليات البالغة من رتبة غشائية الاجنحة أظهرت قصر فى فترة حياتها بعد التغذية على سوائل جسم يرقات العائل المسممة ببكتريا BT. بالاضافة انى ذلك فان الاخيرة أظهرت خفض فى خروج أشباه الطفيليات البالغة مع خفض فى مقدرة التكاثر. أظهر أحد التقارير حدوث تلف فى المعدة فى غشائية الاجنحة بسبب الدلتا- اندوتوكسين. هذا بينما فى الامكان أن الاخير يكون ذات سمية ضعيفة لليرقات وهذا غير شائع الحدوث بسبب أن تنشيط التوكسين يعتمد على ظروف حموضة PH خاصة ومواقع ارتباط خاصة فى الغشاء. مع التركيزات العالية من الجراثيم يحدث تعفن بكتيرى فى الدم. التفسير الاكثر احتمالا يتمثل فى أن هذه التأثيرات قد ترجع الى أن العوائل المسممة ببكتريا BT اقل ملائمةمن الناحية الغذائية عما هو الحال مع العوائل السليمة الصحية. لقد أجريت محاولات قليلة للوقوف على سبب الموت فى العديد من الدراسات. مطلوب دراسات ميكروسكوبية وميكروبيولوجية لتحديد ما اذا كان تعفن الدم Septicemia أو التسمم intoxication أو التغذية Nutrition أو أى عامل أخر مسئول عن الموت. لقد حدث سبب مباشر لموت الكائنات غير المستهدفة NTO's فى الحالات التى تناولت فيها يرقات حرشفية الاجنحة جرعات قاتلة من بكتريا BT ويرقات أشباه الطفيليات كانت غير قادرة على استكمال نموها قبل موت العائل. التتابعات لغشائية الاجنحة كانت قاتلة كذلك كما هو الحال عندما تؤكل يرقات العائل بواسطة المفترسات.

بعض أنواع ذبابة Tachinid واشباه طفيليات غشائية الاجنحة أظهرت معدلات عالية من التطفل بعد التطبيقات الحقلية لبكتريا BT بسبب الاعداد الكبيرة لليرقات الصغيرة المتاحة كعوائل. بعض أنواع أشباه الطفيليات أظهرت تحول فى النسب الجنسية بعد المعاملات الحقلية كنتيجة ليرقات عائلها التى تبقى فى الاطوار الاخيرة

لفترات ممتدة من الوقت. بوجه عام وبشمول أكبر نقول أن تأثيرات معقد الجراثيم-البللورات لبكترياBT كانت أقل ما يمكن على الكائنات غير المستهدفة NTO's عندما استخدمت بالمعدلات الموصى بها. معظم هذه التأثيرات كانت ثانوية فى الطبيعة ناتجة من تقليل صحة العائل أو يرقات الضحية.

جـ- بيتا- اكسوتوكسين (ثورينجينسين) B- Exotoxin (thuringiensin): حيث أن الثورينجينسين ذات طريقة احداث فعل سامة على كل الحيوانات فان الجرعات العالية تميل لاحداث تأثيرات معاكسة على كل الاحياء المعرضة. الثورينجينسين له تأثير ملامس بسيط فى الحشرات. تعريض المفترسات والطفيليات للثورينجينسين المعامل فى الحقل تكون من خلال العائل أو بواسطة الملامسة تناول الجرعات السامة خلال الافتراس والتطفل تكون من الصعوبة بمكان بسبب التخفيف فى العائل والهدم السريع للثورينجينسين داخله. الثورينجينسين الذائب فى الماء عنده ميل قليل للتراكم فى البيئة. بالاضافة الى ذلك فان فقد الفسفرة فى dephosphorylation فى العائل تؤدى الى فقد الفاعلية. بوجه عام فان سمية الثورينجينسين خلال الافتراس والتطفل لم تلاحظ فى المعمل ولا فى الحقل. الانواع من قسم Arachnidae حساسة بوجه خاص لفعل الثورينجينسين. التطبيقات الحقلية للثورينجينسين قد تحدث ضرر اكثر على الاكاروسات والعناكب النافعة عما هو الحال مع الكائنات الحشرية غير المستهدفة. معظم هذه الانواع من الحشرات لم تتأثر بالمعاملة بالثورينجينسين بالمعدلات التجارية الاختيارية من بين الانواع التى تحقق أمان مناسب لبعض الانواع بما يتوافق مع المكافحة الفعالة للآفات المستهدفة.

لو أن الثورينجينسين سام على نحل العسل بالملامسة أو التناول فان مجاميع نحل العسل لم تتأثر فى الحقل بسبب قلة المعدل المستخدم والتخفيف وعادات تغذية الحشرات. التجارب الحقلية فى المستقبل يجب أن تتضمن ملاحظات على فترات طويلة للوقوف على التأثير المتأخر للثورينجينسين فى هذه الانواع من الجرعات المنخفضة.

REFERENSES

Alzied. C. deBarjac. H., and Maggl. P., Tolorance of plarine fauna to Bacillus thuringiensis S znce et Peche.. Bull. Inst. Peches Marit. Maroc. 250. 11. 1975.

Asquith. D.. Response of the predaceous black lady beetle Stethorus punctum (LeConte). to apple orchard insecticide treatments. Abbott labotatories Exp. No. D986-t(x)7. 1975.

Atkins. L., A toxicity test with thuringiensin against honey bee worker adults. unpublished study for Abbott Laboratories. 1985.

Benz, G. and Altwegg, A., Safety of Bacillus thuringiensis for earthworms, J. Inventbr. Pathol. 26. 125, 1975.

Burges. H. D., Leaching of Bacillus thuringiensis spores from foundation beeswax into honey and their subsequent survival. J. Invertebr. Pathol., 28. 393. 1976.

Cantwell. G. E. and Shieh, T. R., Certan-A new bacterial insecticide against the greater wax moth, Am, Bee J., 121, 424, 1981.

Dunbar. J. P; and Johnson, A. W., Bacillus thuringiensis: effect on the survival of a tobacco badworm parasitoid and predator in the laboratory, Environ. Entomol., 4. 352. 1975.

Fusco. R. A., Field evaluation of a commercial preparation of Bacillus thuringiensis. DIPEL, 4L, progress report. Gypsy Moth Pest Management Methods Development Project. Pennsylvania Bureau of Forestry,1980.

Hamed. A, R., Effects of Bacillus thuringiensis on Partasites and predators of yponomeuta evonyellus (Lep., Yponomeutidae). Z. Angew. Entomol., 87, 294. 1978-79.

Haverty. M. I., Sensitivity of selevted non-target insects to the carrier of Dipel 4L in the laboratory, Environ. Entomol., 11, 337, 1982.

Ignoffo. C. M. and Gregory, B., Efects of Bacillus thuringiensis beta-exotoxin on larval maturation, adult longevity and egg vibility in several species of Lepiodoptera, Environ. Entomol., 1, 269, 1972.

Johnson. A., Bacilus thuringiensis and tobacco budworm control on flue-cured tobacco. J, Econ. Entomol..67. 755, 1974.

Krieg. A., Hassan. S., and Pinsdorf. W., Comparison of the effect of the variety israelensis with other varictiex of B. thuringiensis on non-traget organisms of the order Hymcnopleta: Trichgramma cacoectae and Apis mellifera. Anz. Schaedlingsk. Pflanz. Umweltshutz. 53. 81, 1980.

Lacey. I. A., Mulla. M. S., and Dulmage. H. T.. Some factors alfecting the pathogenieity of Bacillus thuringiensis Berliner against blackflies. Environ. Entomol., 7. 583. 1978.

Mayer. D., The effect to thuringiensin on adult honey bees (Apis mellifera) and leafcutter bees (Megachile rotundata) in a laboratory mortality bioassay, unpublished study for Abbott Labortories, 1985a

Patterson. C., Potts, M., and Rodriguez. J. G., Laboratory evaluation of Abbott thuringiensin. Unpublished study for Abbott Laboratories, 1968.

Salama, H., Foda, M., Zaki. F., and Khalafallah, A., Persistence of Bacillus thuringiensis Berlinerspores in cotton cultivations, Z. Angew. Entomol., 95. 321, 1983.

Vandenberg, J. and Shimanuki. H., Two commercial preparation of the beta-exotoxin of Bacillus thuringiensis influence the mortality of caged adult honey bees, Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae), Environ. Entomol., 15. 166. 1986.

Weires, R. W, and Smith, G. L., Apple mite control, N. Y. St, Agric. Exp. Sta. Rep., Hudson Valley, NY, 1977.

Yousten. A. A., Effect of the Bacillus thuringiensis 8-endotoxin on an insect predator which hasconsumed intoxicated cabbage looper larvae. J. Inventebr. Pathol., 21. 312, 1973.

الفصل الثالث

أمان باسيلليس ثورينجينسيز اسرائيلينسيز والباسيلليس سفيريكس على الكائنات غير المستهدفة فى البيئات المائية

مقدمة: البعوض والذباب الاسود تنقل الوسائل المسببة لبعض الامراض التى تسبب الوهن والضعف للانسان بما فيها الملاريا وداء المذنبات الملتحية onchocerciasis والامراض الفيروسية arboviruses والفلاريا الليمفاوية Failariasis وغيرها من الامراض الطفيلية المتنوعة فى الانسان وغيره من الفقاريات. المكافحة الاختيارية للناقلات الحشرية للامراض تمكن من خفض المرضية او نسبة انتشار المرض Morbidity والموت Mortality الذى يتسبب عن هذه الامراض مع أقل تأثير ضار على البيئة. قبل اكتشاف الممرضات البكتيرية عالية الكفاءة والاختيارية على الناقلات الحشرية للامراض تم استعراض التأثير على البيئة المائية وأمان المستحضرات المتوفرة للمكافحة الميكروبية للحشرات. بواسطة الباحث Singer (١٩٥٧) وغيره من الدارسين خلال مشاركتهم فى ورشة العمل التى نظمتها وأشرفت عليها (EPA) بالاضافة الى التوصيات الخاصة بدراسة ثبات وأمان الوسائل الميكروبية للمكافحة فان المشاركون أوصوا باستمرار البحث عن وتطوير الكائنات الدقيقة التى تساهم فى ادارة السيطرة على الافات فى البيئات المائية. خلال ١٥ عاما من البحث والتطوير تم عزل بكتريا فعالة ذات كفاءة فى مكافحة والقضاء على اليرقات مقارنة أو قريبة فى الكفاءة والفاعلية للعديد من المبيدات الحشرية الكيميائية التقليدية. أظهرت التجارب الحقلية المكثفة أن بعض عزلات بكتريا باسيلليس سفيريكس (فى الغالب الطرز السيرولوجية 5a، 5b) والباسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع اسرائيلينسيز (الطرز السيرولوجى H-14) تحقق مكافحة اختيارية ليرقات البعوض والذباب الاسود مع قليل من التأثير على الكائنات غير المستهدفة.

لقد حدث تطور سريع من الناحية التجارية لبكترياBT اسرائيلينسيز بعد اكتشافها مباشرة بواسطة الباحثان Goldberg and margalit (١٩٧٧). لقد تم توثيق فاعليتها ضد أنواع عديدة من الافات والبعوض الناقل للملاريا وغيرها والذباب الاسود فى اماكن كثيرة من العالم. السرعة التى تم فيها تسجيل هذه المنتجات تجاريا فى امريكا كانت ترجع الى الدرجة العالية من الاختيارية Selectivity لتوكسين هذا الكائن الدقيق

تحت ظروف معينة وقد لوحظ الاثر والفعل الباقى الطويل وتدوير recycling البكتريا وكذلك السجلات الخاصة بتسجيل وأمان هذه المركبات فى الزراعة وسلالاتBT ذات الفعل الاختيارى ضد وتجاه حشرات حرشفية الاجنحة.

بالرغم من أن B. sphaericus ذات مدى عوائلى ضيق فانها لها كفاءة عالية كمبيد يرقات ضد البعوض. العديد من العزلات أثبتت فعل ابادى فى اليرقات ضد عدد من أنواع البعوض وتحت ظروف معينة لوحظ الفعل الباقى الطويل وتدوير البكتريا. العزل الحديث والاختبارات الحقلية الملائمة للسلالات ذات الكفاءة العالية جدد الاهتمام فى النواحى التجارية لبكتريا.BT سفيريكس.

القبول العريض من قبل العامة والوكالات التشريعية لهذه الوسائل الميكروبية فى المكافحة كان مسبوقا باختبارات مكثفة عن الامان تحت مختلف الظروف البيئية. بالرغم من أنBT تحت السلالة اسرائيلينسيز مسجلة للاستخدام فى العديد من البلدان ومع أن الكثير من الدراسات أوضحت قليل من التأثيرات المعاكسة على غالبية الكائنات غير المستهدفة NTO's فان استخداماتها فى المياه الجارية Lotic تؤدى الى كثير من الخلافات والاراء المتعارضة. الاهتمام الاكبر محل الخلاف ينصب على الامان على الانسان والكائنات غير المستهدفة النافعة والتأثير الشامل فى أو على الشبكة الغذائية خاصة ما يتعلق بصناعة صيد السمك"الباسيلليس سفيريكس لم تسجل حتى الان للاستخدام الميدانى. فى هذا المقام سوف نقوم باستعراض البيانات المتاحة عن التأثيرات فى المدى القصير والطويل للوسائل الميكروبية على الكائنات غير المستهدفة NTO's فى البيئات المائية.

١- تأثير BT اسرائيلينسيز على اللافقاريات غير المستهدفة فى المياه الجارية:

من بين نوعى الوسائل الميكروبية محل التناول فى هذا المقام اتضح أنBT اسرائيلينسيز فقط ذات فعل ونشاط قاتل لليرقات من الذباب الاسود ومن ثم فهو النوع الوحيد الذى استخدم بكثافة فى البيئات وأماكن المعيشة فى المياه الجارية. ولو أن بكترياBT سفيريكس فعالة ضد أنواع البعوض التى توجد على حواف التيار الجارى (مثل أنوفيليس مينميس وغيرها) لم تجرى دراسات مستفيضة عن تأثيرات هذه البكتريا على الكائنات غير المستهدفة فى بيئات المياه الجارية.

هناك اتفاق ضمنى على العوامل الحيوية التى تحكم اختيارية BT اسرائيلينسيز على يرقات الذباب الاسود. مجموع عوامل السلوك الاختيارى لتغذية يرقات الهاموش

المستهدفة، درجة الحموضة العالية نسبيا للمعدة، الاكتمال الملائم للانزيمات المحللة للبروتين Proteolytic enzymes تعمل وتمكن من اصطياد وتفرق وتنشيط الاجسام الضمينة للجراثيم الاولية التى تحتوى على التوكسين. غياب اى من هذه العوامل يقلل لحد كبير ويبطل nullifies حساسية النوع المعنى تجاه التأثيرات المعاكسة والخطيرة لبكترياBT اسرائيلينسيز. كمثال فان الحشرات ذات الاختيارية الغذائية Filter feeding من رتب Ephemoroptera وTrichoptera وغير ها قد تقوم بالتناول الفعلى للتوكسين دون أى تتابعات تنشيطية حتى تظل غير ضارة على هذه الكائنات. من جهة اخرى فان بعض حشرات المياه الجارية من شبكية الاجنحة قد تكون حساسة فى الاصل لتوكسين البكتريا ولكن قد لا يحدث تناول لكميات كافية من التوكسين بسبب كيفية احداث الفعل (مثال ذلك المفترسات وجامعى الفتات Scraper والجامعات gatherer... الخ).

(أ) طرق قياس التأثير على الكائنات غير المستهدفة فى المياه الجارية:

١- **الدراسات المعملية:** لقد تم وضع وتطوير مجموعة من طرق وخطوات التقييم الحيوى bioassay للوقوف على النشاط الابادى على اليرقات للمبيدات الحشرية المستخدمة فى مكافحة الذباب الاسود بما فيهاBT اسرائيلينسيز. لقد تم عمل استعراض مرجعى لهذه الدراسات بواسطة Lacey وأخرون (١٩٨٢) وWalsh (١٩٨٥). من سوء الطالع أن استخداماتها لتحديد وتقدير التأثير الحاد لنفس مبيدات اليرقات على NTO's محدودة للغاية. التقييم المعملى لتأثير هذا الكائن الدقيق على الاحياء غير المستهدفة فى النظم البيئية فى المياه الجارية تكون مفيدة كذلك اذا كان التقييم الحيوى يجعل من معدلات وسلوك التغذية مقارن لتلك التى تلاحظ فى البيئة الطبيعية. مثال ذلك فان البيانات التى تحصل عليها فى التقييم الحيوى لبكترياBT اسرائيلينسيز ضد الاحياء المائية والتى أجريت فى المياه الساكنة Still water تحت درجات منخفضة بشكل شاذ ذات قيمة محدودة. حتى نظام التقييم الحيوى البسيط نسبيا والذى يسمح بالتغذية المرتبطة والعادية يمكن أن يعطى معلومات ذات قيمة عن الحساسية لبعض المجاميع الفعالة. مثال ذلك أن نظم التقييم الحيوى الذى يتحقق فيها الجريان أو التيارات المائية عن طريق فقاقيع الهواء أو القلابات المغناطيسية أو العبوات المغزلية قد تكون ملائمة للانواع التى ترتبط مع السطوح الناعمة نسبيا وتتغذى داخل طبقة الحاجز. هذا ولو أن هذه النظم قد لا تزود أو تحقق تنوع الظروف الموجودة فى التيارات الطبيعية التى تمكن من اجراء التقييم الحيوى

للبكترياBT تحت النوع اسرائيلينسيز ضد مدى عريض من الكائنات غير المستهدفة NTO's. النظم الاكثر تطورا عن التدوير وتهوية الماء الذى استخدم بواسطة Gawgler وأخرون (١٩٨٠) مع ادخال الوسائط الطبيعية تقدم محاكاة أفضل للظروف الحقلية المتنوعة.

٢- **الدراسات الحقلية:** نظم الانسياب وصورة الاتجاه unidirectional flow أو المزاريب أو البواليع الدقيقة minig-utters عند جانب التدفق للتيار باستخدام تيار ماء متدفق بالضخ او الجاذبية تقدم نظام محاكاة واقعى عن مكان المعيشة مع تحقيق ملائمة الحجم الصغير والانشاء السريع والتكرارية. نظم الاحواض أو المجارى الصغيرة تحتوى على الوسائط الطبيعية مثبتة او ترتكز فى التيار أو فى النهر الذى عومل بما يحقق مميزات نظام البواليع الدقيقة فيما عدا عامل التكرارية repeaability تحت ظروف أكثر طبيعية. وضع الشباك نهاية اتجاه مجرى الاحواض والمجارى بما يسمح بالقياس الدقيق للانجراف والموت.

من أكثر الطرق الدقيقة لتقييم تأثير المبيدات الحشرية على الكائنات غير المستهدفة NTO's خاصة تأثيرات تكرار التطبيق تلك التى أجريت فى المواقع الاصلية in situ. لقد استخدمت طرق عديدة لأخذ العينات لاحصاء Sensusing مجاميع اللافقاريات قبل وبعد المعاملة بالمبيدات الحشرية. هذه الطرق تشمل أخذ عينات الانجراف واستخدام الوسائط الصناعية للمستعمرات واستخدام جهاز أخذ العينات Surber وغيره من الوسائل والحصر والعد من الوسائط الطبيعية والتربية المعملية فى مقابل الكائنات المعرضة فى الحقل. العديد من التجارب الحقلية المبكرة علىBT اسرائيلينسيز ضد يرقات الذباب الاسود اشتملت كذلك على تقييم أولى لامكانية التأثير السالب على الاحياء غير المستهدفة. الدراسات التى أجريت فى مختلف أنواع التيارات المائية فى الظروف المناخية الاستوائية والمعتدلة أظهرت قليل أو عدم التأثير على العديد من الاحياء من حشرات الماء الجارى.

(ب) التأثير على الكائنات غير المستهدفة فى المياه الجارية على المدى القصير:

الجدول (٤- ٨) يتضمن نتائج العديد من تجارب التقييم قصيرة المدى للوقوف على تأثيرBT اسرائيلينسيز على الكائنات غير المستهدفة فى المياه الجارية Lotic. فى معظم الحالات ظهر القليل من التأثيرات المعاكسة الواضحة فى غالبية الاحياء غير المستهدفة فى دراسات الاستكشاف. فى بعض الحالات حدثت زيادة فى NTO's بعد

المعاملة ببكترياBT اسرائيلينسيز. الزيادة الواضحة هذه قد ترجع الى خفض المنافسة على المكان خلال التخلص من أنواع السيميوليد المستهدفة بما يمكن من التوسع فى استخدام الوسيط الذى لم يكن متاحا من قبل. واحد من التقييم الذى أجرى بتفصيل أكثر للتأثير قصير المدى فى الوقت الراهن لم تظهر أى زيادة فى انجراف ٢٧ من العائلات غير المستهدفة ولا اى نقص معنوى فى كثافات مجموع ٧٥ من الاجناس غير المستهدفة بعد معاملة الرتبة الثلاثية وسلحفاة تيار الماء البارد مع جرعات تشغيلية للفيكتوباك– AS.

بعض يرقات شبكية الاجنحة فى المياه الجارية قد تأثرت عكسيا بواسطة التعرض لبكترياBT اسرائيلينسيز. من أكثر العائلات السوبر التى تأثرت هى Culicoidae التى تشمل Culicidae، Chironomidae، simulidae ، Belapharoceridae وغيرها من العائلات الاخرى التى وجدت فى أماكن المعيشة فى المياه الجارية Lotic والساكنة Lenitic. الزيادة فى الانجراف و/أو النقص فى كثافة المجموع لبعض أعداد الكائنات غير المستهدفة فى هذه العائلة السوبر حدثت من جراء المعاملة بالجرعات المحددة من بكتريا BT اسرائيلينسيز. عائلة الكيرونوميدى من أكثر العائلات شيوعا التى تأثرت من بين الكائنات غير المستهدفةNTO's. بالاضافة الى التأثيرات على بعض الكيرونوميدى أشارBack وأخرون(١٩٨٥) الى زيادة موت وانجراف يرقاتblepharacerid التى تعرضت لتركيزات عالية من مركب التكنار Teknar. لم تلاحظ أية تأثيرات معاكسة من مستحضرVectabac-ASعلى الكيرونوميدى ولو على بليفاروكيريد عندما استخدمت بمعدلات منخفضة(جدول ٤– ٨).

جدول (٤– ٨): التأثيرات على المدى القصير لبكتريا BT اسرائيلينسيز على الكائنات غير المستهدفة فى المياه الجارية تحت الظروف الطبيعية

الموقع Location	التأثير على NTO's Impact on NTO's	طريقة اخذ العينات Sampling method	المستحضر/ التركيز Formulation/ concentration	غالبية الاحياء غير المستهدفة Major taxa of predominant NTO's
Ivory Coast	No adverse effect	Drift samples in stream trough	Primary powder (0.2 mg/ 1/10 min)	Ephemoptera. Trichoptera Lepidoptera. Odonata. Mollusca. Hirudinea
Newfoundland Canada	No adverse effect	Counts from natural substrates	Aqueoussuspension (10^5 spores per ml/1 min)	Trichoptera. Pleocoptera. Coleoptera. Ephemoptera. Odonata.

Chironomidae. Ephemeroptera. Trichoptera.	Teknar® WDC (1.6 mg/1/10 min)	Drift samples. in stream through	Increased drift. some reducion of chironomids	Ivory Coast
Chironomidae. Trichoptera. Ephemeroptera. Plecoptera. Elmidae	Primary powder (0.5 mg/ 1/15 min)	Suber sampler. counts from natural substrates	No adverse effect	New York
Chironomidae. Ephemeroptera. Trichoptera.	Teknar® WD (1.5 mg/1/10 min)	Artificial substrates	No adverse effect	Ivory Coast
Chironomidae. Ephemeroptera. Trichoptera.	Teknar® WDC (1.6 mg/1/10 min)	Drift samples. in stream through	Increased drift. some reducion of chironomids	Ivory Coast
Ephemeroptera. Trichoptera. Pleocoptera. Coleoptera. Chironomidae. Dixidae.	Teknar® WDC (2 mg/1/15 min) or Primary powder (0.2 mg/ 1/15 min)	Suber samples	No adverse effect	New Zealand
Chironomidae	Teknar® WDC (1.6 mg/1/10 min) or Primary powder (3.0 mg/ 1/10 min)	Counts from natural substrates	No adverse effect	South Africa
Chironomidae. Ephemeroptera. Pleocoptera. Trichoptera. Gastropoda. Platyhelminthes.	Teknar® WDC (1.6 mg/1/10 min) or (2.3 mg/ 1/7 min)	Drift samples, counts from natural substrates	Mortality in Ephemeroptera. some reduction of Chironomidae. (Tanytarsini). reduction in Burnupia (Gastropoda)	South Africa
Ephemeroptera. Trichoptera. Pleocoptera. Chironomidae.	Teknar® WDC (10 mg/1/10 min)	Drift samples. "kick" samples	some reduction of Chironomidae larvae. Increase in drifting by Ephemeroptera (2 spp.). Trichoptera (2 spp.)	New Hampshire
Chironomidae	0.7- 2.0 mg/l operational dosage (application time not given)	Counts on natural and artificial substrates	Some education of chironomids at 17x operational dosage	Federal Republic of Germany
Chironomidae. Blepharoceridae. Trichoptera. Pleocoptera. Ephemeroptera	Teknar® WDC (5.86 mg/1/15 min)	Artificial substreats and drift nets	Increased drift in Blepharoceridae. reduction in to genera of Chironomids. other taxa not adversely affect	Quebec

Chironomidae and other Nematocera. Ephemeroptera. Lepidoptera (Pyralidae). Trichoptera	Teknar® WDC (1.6 mg/1/10 min) or Primary powder (0.2 mg/ 1/10 min	Drift samples. in stream troughs ans Surber samples	Increased drift. some reducion of Hydropsychidae	Ivory Coast
Ephemeroptera. Pleocoptera. Trichoptera Chironomidae. and other nematocera. Coleoptera	Vectobac®- AS (10 mg/1/1-5 min)	Artificial substreats and drift nets	No significant advers effects	Maine
Chironomidae. Ephemeroptera. Trichoptera	Teknar® WDC (1.6 mg/1/10 min)	Drift samples. counts on natural substrates	Slight increase in drift. some reduction of chironomids (Tanytarsini)	South Africa
Coleoptera. Diptera. Ephemeroptera. Pleocoptera. Trichoptera	Vectobac® - AS (1 mg/1/10-30 min)	Drift nets. counts from natural substreats. "portable invertebrate sampling box"	No adverse effect	New York

لقد لوحظ زيادة فى انجراف أحياء أخرى الى جانب شبكية الاجنحة. كذلك أشار الباحث Gibon وأخرون (١٩٨٥) الى حدوث زيادة كبيرة فى انجراف حشرات Ephemeoptera و Trichoptera بعد فترة قصيرة من استخدامBT اسرائيلينسيز. اذا أخذ فى الاعتبار نقص البيانات عن حساسية هذه الاحياء لهذه البكتريا فانه من الممكن أن تكون الزيادة فى معدلات الانجراف راجعة الى الزيادة المؤقتة فى الجسيمات أو الرقائق Particulatas خلال فترات المعاملة خاصة التيار الفورى لنقاط المعاملة. المواد الاضافية Adjuvants قد تساهم كذلك فى الهياج وما يستتبعه من انجراف الكائنات غير المستهدفة فى الاعماق benthic. لقد عزى الباحث Dejoux التأثيرات المعاكسة لمركب تكنارTeknar على ذباب الكاديس فى المجارى المائية المعاملة فى ساحل العاج الى مكون الزيلين فى مستحضر المركب البكتيرى. كذلك فان زيادة الانجراف لا تعتبر دائما كدليل عن التأثير القاتل المباشر لتوكسين البكتيرى ومع ذلك فان الزيادة augmentation غير الطبيعية فى سلوك الانجراف سوف تضع الكائن المنجرف فى خطر كبير بسبب الافتراس. لقد أشار أحد الباحثين الى أن الزيادة فى الانجراف بعد استخدام المبيدات الحشرية الكيميائية كان كبيرا بشكل واضح عن ذلك الذى حفز بواسطة مستحضراتسBT اسرائيلينسيز.

الموت فى الكائنات غير المستهدفة NTO's من غير شبكية الاجنحة بعد المعاملة بمستحضراتBT اسرائيلينسيز أقل تكرارية فى الحدوث عما هو الحال مع

الانتشار المتزايد. المستوى العالى للموت فى حشرات Ephemeroptera ترجع على الاقل فى جزئية الى التداول الاجهادى. لقد أشار بعض البحاث الى حدوث نقص غير ممكن تفسيره فى كثافة مجموع القواقع Burnupia بعد المعاملة بالتكنار. فى دراسات أخرى لم تسجل أية تأثيرات معاكسة لبكترياBT اسرائيلينسيز على قواقع الاعماق الاخرى وقواقع غير الانهار.

من أهم اهتمامات الوكالات التشريعية والعامة بوجه عام ما يعنى التأثيرات التى يمكن أن تحدثها مستحضرات بكترياBT اسرائيلينسيز على الاسماك. حديثا تأكد أن تركيزات المستحضرات الخاصة بهذا الكائن الدقيق والمستخدمة فى مكافحة الذبابة السوداء لم تحدث أية أضرار على الاسماك وغيرها من الفقاريات. لقد وجد أن التركيزات العالية بشكل غير عادى من مستحضر تكنار احدثت تأثيرات ضارة على السلمون مع أن الباحث Fortlin وأخرون (١٩٨٦) خلصا الى أن هذه التأثيرات الضارة لم تتسبب عن الاندوتوكسين ولكنها حدثت بسبب الزيلين وهو أحد مكونات مستحضرTeknar عن النوع WDC أو المركز القابل للانتشار فى الماء. لقد درس الباحث Gibbs وأخرون (١٩٨٦) تأثيرات الجرعات الموصى بها (١٠ مللجم/لتر لمدة ١- ٥ دقائق) من الفيكتوباك- AS على سلوك تغذية S.fontinalis، slimy sculpins، cottus cngnatus. بالرغم من أنه كانت هناك زيادة طفيفة فى تناول يرقات الذباب الاسود فى عينات ما بعد المعاملة (بما فيها تيارات الكاء المقارنة) لم يكن ممكنا ارجاع اى تغيير الى معاملات فيكتوباك.

(ج) التأثيرات على النظم البيئية فى المياه الجارية على المدى الطويل:

استكشاف التأثير طويل المدى لبكترياBT اسرائيلينسيز على النظم البيئية فى المياه الجارية سوف تمكن من تقدير التأثيرات المزمنة لتوكسين الميكروب على الكائنات غير المستهدفة الحساسة وكذلك تأثيرها على تركيب الشبكة الغذائية. أى تدخل intervention يحدث خلل أو اعادة هيكلة المجتمعات المائية قد تؤدى الى حدوث تأثيرات ضارة معاكسة فى المستويات الغذائية الراقية. كلما تنوعت الشبكة الغذائية (من حيث عدد الكائنات والانواع عند كل مستوى غذائى) كلما قل التأثير الفاجعى الغذائى catastrophic بسبب الازالة الكاملة أو الجزئية لنوع معين أو مجموعة من الانواع (مثل السيميوليدات أو بعض أنواع الكيرونوميدى). لقد أشار Molloy الى عدم تسجيل أية تأثيرات ضارة لمجتمع الحشرات غير المستهدفة على المدى الطويل فى التيار

ثلاثى الرتبة الثالثة فى جبالAdirondack (نيويورك) بعد سنتان من تطبيق برنامج مكافحة الذباب الاسود باستخدام بكترياBT اسرائيلينسيز.

٢- تأثير BT اسرائيلينسيز والباسيليس سفيريكس على الكائنات غير المستهدفة فى المياه الساكنة :Lenitic habitats

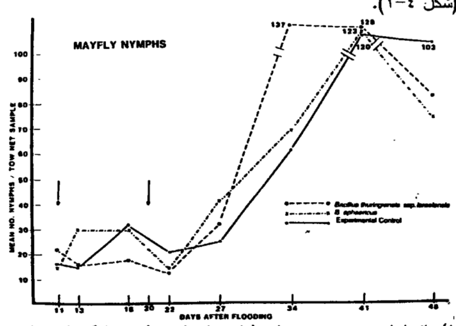
عدد الدراسات التى أجريت عن تأثيرات هذين النوعين من البكتريا فى أماكن المعيشة فى المياه الساكنة فاقت كثيرا تلك التى أجريت فى المياه الجارية. فى تجارب التقييم الاولى على بكترياBT اسرائيلينسيز ضد الانواع غير المستهدفة أصبح موثوقا أنه بعيدا عن بعض التأثيرات على الكيرونوميدى وبعض الانواع الاخرى للكيوليسيودى فان سيادة الكائنات غير المستهدفة تظل بدون أن تتأثر. فى هذا المقام سوف نركز على تأثيراتBT اسرائيلينسيز وB سفيريكس على المجاميع المختارة من الكائنات غير المستهدفة فى المياه الساكنة مع التمثيل بالمستويات الغذائية المختلفة فى السلسلة الغذائية.

(أ) **الرعاشات** Odonata: حشرات الرعاشات غير الناضجة أو الرعاش الكبير dragonfly (Anisoptera) وحوريات حشرة ذبابة damsefly (zygoptera) مائية بطبيعتها وتوجد بشكل دائم فى اماكن معيشة يرقات البعوض. الحوريات حشرات مفترسة ليرقات البعوض وغيرها من اللافقاريات الكبيرة macroinvertebrates. كمثال فان حوريات الرعاش Tranetrum corruptum تستهلك حوالى٣٦ يرقة بعوض عمر رابع لكل حورية خلال أربعة أيام فى الاختبارات المعملية. تحدث معدلات استهلاك مشابهة فى حوريات الدامس فلاى Enallagma civile حيث قدر انها تستهلك ٢٨ يرقة بعوض خلال أربعة أيام.

يرقات البعوض المسممة intoxicated بجرعات متناهية العلو من بكترياBT و B سفيريكس قدمت للرعاشات T.corruptum و E.civile. لقد تم تعريض اليرقات الضحية الى واحد جرام من المستحضرات البكتيرية لكل لتر (١٠٠٠مرة عن أقصى معدل لمبيد اليرقات) ثم قدمت للحوريات بمجرد ظهور علامات التسمم بشكل واضح. تجهيزات الممرضات التى استخدمت فى هذه الاختبارات كانت المعلق المائى(AS) لبكترياBT اسرائيلينسيز (ABG- 6145, 600 ITU/mg; Abbott laboratories, North chieago, IL) وكذلك المعلق المائى للباسيلليس سفيريكس السلالة ٢٣٦٢ (BSP- 1.2x10^7 spores/ ml., Solvay and co. Brussels). فى هذه التجارب تناولت الحوريات كميات معتبرة من كل توكسين حيث يذاب جزئيا وينشط فى أمعاء الضحية. لقد تناولت الحوريات كذلك أعداد كبيرة من الجراثيم الساكنة والمنبتة من تلك الموجودة فى أمعاء يرقات البعوض. لم تسجل اختلافات معنوية فى

معدل استهلاك يرقات البعوض غير المعاملة وتلك المعاملة ببكترياBT اسرائيلينسيز و B سفيريكس. دوام تطور حوريات الداجون فلاى والدامس فلاى من وقت التعرض وحتى الخروج كانت وبالضرورة متساوية فى أفراد المقارنة وأفراد المعاملة. لاحظ العديد من البحاث عدم حدوث أية تأثيرات معاكسة على الرعاشات Odonata بواسطةBT اسرائيلينسيز.

ب- **حشرات** Ephemeroptera: الايفيميروبترا من بين أكثر الغازيات سيادة فى أماكن فيضان الماء الحديث والحيوى biotopes ليرقات البعوض. هذه الغازيات عبارة عن اكلات العشب herbivores تتغذى على الطحالب وغيرها من المواد النباتية كما تلعب دورا هاما فى أيكولوجية المناطق دائمة أو مؤقتة الفيضان. حيث أنها تلعب دورا مؤثرا ومحددا فى الانتاج الأولى فانه من المهم وألا تضار هذه الكائنات بواسطة أية تداخلات تستخدم فى برامج مكافحة ناقلات الامراض. فى برامج التجارب الحقلية على بكترياBT اسرائيلينسيز و B سفيريكس فى كاليفورنيا ضد يرقات البعوض تم عمل ملاحظات كمية مكثفة عن تأثيراتها على حوريات ذبابة مايو وفى الغالب Callibaetis pacificus . فى دراسة أخرى عن تأثيرات BT اسرائيلينسيز (Vectobac معامل أبوت) و B سفيريكس٢٣٦٢ (مسحوق أولى- معامل أبوت) باستخدام معدلات ضد اليرقات ٠,٥٦ ، ٠,٢٢ كجم/هكتار على التوالى لم تسجل أية تأثيرات معاكسة ملحوظة على حوريات ذباب مايو. اتجاهات المجموع التي تتابعت مع فيضان البرك الجافة كانت مشابهة البرك المعاملة وغير المعاملة (شكل ٤-١).



شكل (٤-١): اتجاهات مجموع حوريات ذباب مايو فى برك معيشة يرقات البعوض التجريبية غير المعاملة وتلك المعاملة ببكترياBT اسرائيلينسيز و B سفيريكس بالمعدلات القاتلة لليرقات موضحة بكثافة يرقات البعوض. الاسهم تشير الى تطبيق المعاملات.

للديازينون ، الكاربارِيل ، البروبوكسر بينما لم يتوصل إلى ارتباط مــع التعــرض للملاثيــون أو الكلوربيريفوس بينما لم يتوصل إلى ارتباط مع التعرض للمالاثيون أو الكلوربيريفوس كمــا فــي الجدول (٨-٣) . في الغالب كانت معظم الارتباطات ضعيفة بسبب قلة أعداد أفراد الحالات.

جدول (٨-٣) : دراسات وبائية مختارة وسرطان الرئة والتعرض للمبيدات الحشرية :

Reference	Study Population.	Exposed Cases	Estimated Relative Risk (95%CI)
Specific Insecticides			
Colort Study			
Pesatori et al., 1994	Pest-control workers in Florida		
	Living controls[a]		
	Diazinon	17	1.3 (0.6-3.1)
	Malathion	11	1.0 (0.4-2.6)
	Chlorpyrifos	3	0.6 (0.1-2.4)
	Carbaryl	3	4.2 (0.6-27.2)
	Propoxur	5	1.4 (0.4-5.5)
	Deceased controls[a]		
	Diazinon	17	2.0 (0.7-5.5)
	Malathion	11	1.6 (0.5-4.6)
	Chlorpyrifos	3	1.3 (0.2-7.1)
	Carbaryl	3	NA
	Propoxur	5	12.4 (1.5-100.3)
Classes of Insecticide			
Cohort Study			
Pesatori et al., 1994	Pest-control workers in Florida		
	Living controls[a]		
	Organophosphorous agents	23	2.0 (0.8-5.0)
	Carbamates	7	1.8 (0.5-6.4)
	Deceased controls[a]		
	Organophosphorous agents	23	2.2 (0.8-5.8)
	Carbamates	7	16.3 (2.2-122.5)
Case-Contral Study			
McDuffie et al., 1990	Male cases from Saskatchewan Cancer Foundation Registy		
	Cabamates	9	0.46[a]
Indsecticides			
Cohort Study			
Rapiti et al., 1997	Male workers at Italian chemical production Plant	4	0.80 (0.27-1.82)[b]
Case-Control Study			
McDuffie et al., 1990	Male workers at Italian chemical production Foundation Registy		
	Other insecticides[c]	19	0.95[a]

[a]Results are adjusted for smoking. [b]90% CI.

[c]Insecticides other than chlorinated hydrocarbons, arsenic, or phosphodithioate.

باستخــدام سجــلات مؤسسة Saskatchewan للسرطان قام الباحث Mcduffie ومعاونوه (١٩٩٠) بتعريف حالة سرطان أولية تم تشخيصها في سنوات ١٩٨٣ – ١٩٨٦. لقد تم تعريــف أفراد المقارنة من المجموع (العدد=١٨٧) من سجلات خدمات مستشفى ساسكاتشوان. لقد تم سؤال كل المشاركين لتحديد التعرض المهني وتاريخية العلاج الطبي وحالة التدخين. نسبة الشذوذ مــع سرطان الرئة والتعرض للكاربامات كانت أقل من (١) مما دعى إلى الاقتراح بعدم وجود خطــر سرطان الرئة من جراء التعرض للمبيدات.

لقد قام Resatori ومعاونوه (١٩٩٤) بتقييم التعرض لمجاميع المبيدات الحشرية عن طريق القسم في دراسة على عمال مكافحة الآفات كما ذكر قبلاً. خطر سرطان الرئة زادت مع المبيدات الفوسفورية العضوية (OR=٠,٢) والكاربامات (OR=١,٨) كما نقرر بواسطة العشــيرة التاليــة ومعظم النتائج كانت تحمل في طياتها عدم اليقين.

سرطان العظام Bone Cancer :

من بين الصور العديدة لسرطان العظام والمفاصل ورم العظام الخبيث الذي يظهر النســيج في الضام Osteosarcoma وهو من أكثر أنواع سرطان العظام شيوعا حيث يصل إلى حــوالي ٣٥% في كل الحالات . يحدث هذا السرطان بشكل متكرر في الذكور ويوجد ســرطان العظــام الخبيث في الغالب في ذوي العمر ١٠–٣٠ ومن النادر حدوثه في منتصف العمر . حوالي ١٠% من الحالات تطورت في الناس بعمر ٦٠ سنة والأكثر عمراً . من أنواع سرطان العظام الأوليــة الأخرى سرطان الخلايا الغضروفية chondrosarcoma وورم ليونج Ewingi tumor (سرطان تجويف العظم) وسرطان قاعدة الجمجمة وعظام الحبل الشوكي chordoma وسرطان الأنســجة الضامة مثل الورم الليفي الحميد histiocytoma والورم الليفي الخبيث fibrosarcoma . لقــد كان معدل البقاء خلال الخمس سنوات أعلى حتى ٨٠% ولكن التكهن بالناس ذوي سرطان العظام يتفاوت كثيراً اعتماداً على نوع السرطان والمرحلة التي تم فيها التشخيص (Acs , ٢٠٠٠ – e).

عوامل الخطر مع سرطان العظام تتمثل في التعرض للإشعاع المتأين خاصة في المرحلــة المبكرة أو مع الجرعات العالية وتاريخية الخلل الوظيفي في العظام مثل مرض باجيــت pagets disease ووجود العرف المتعدد (نامية عظمية فوق العظم) exostoses وهي تمثل نمــو زائــد لأنسجة العظم ، أورام حميدة في العظام تتكون بواسطة العظم والغضاريف osteochondromas وأورام الغضاريف الحميدة المتعددة enchondromas وبعض العوامل الوراثية (مثــل طفــرات جين الورم P53 – الخافض suppressor) (ACS – ٢٠٠٠ – e ، NCI , ٢٠٠٢ – i) .

الدراسات الوبائية عن التعرض للمبيدات الحشرية: لقد تناولت العديد من الدراسات فحــص خطر سرطان العظام بين الفلاحين وعمال الزراعة (مثل Blair وآخرون ١٩٩٣ ، Brownson

معدلات التطور ووضع البيض وحيوية البيض متساوية فى المجاميع المعاملة وغير المعاملة. لقد أظهرت الدراسات الى أجريت بواسطة Olejnicek and marystova أن يرقات البعوض التى سممت بواسطة بكتريا BT اسرائيلينسيز لم تسبب أى موت ملحوظ فى المفترس نوتونكتا جلوكا التى تغذت عليها. فى تجارب معملية استخدم فيها نوتونكتيد المجموعة من الحقل حدث١٠%موت فى المقارنة فى مقابل١١%فى الحوريات التى استهلكت يرقات مسممة. لقد وجد الباحث Schnetter وأخرون (١٩٨٠) الذى تعرض لمدة ٤٨ ساعة لتركيز١٨٠ جزء فى المليون منBT اسرائيلينسيز بدون تقديم ضحايا مسممة. لقد تم تقييم كفاءة سلالتان من B سفيريكس (1593m و 2362) على المجاميع الحقلية من Anisops bouvieri فى المعمل واتضح ان التركيزات القاتلة النصفية LCSO تزيد بمقدار٥٠٠ مرة عن المعدلات القاتلة لليرقات من هاتين السلالتين.

٣- عائلة نوتونكتيدى (فى الحقل): لم تلاحظ أية تأثيرات معاكسة لبكترياBT اسرائيلينسيز أوB سفيريكس على مفترسات نوتونكتيد فى العديد من الدراسات التى أجريت بواسطة Mulla وأخرون من عام ١٩٨٢-١٩٨٧. فى التجارب الحقلية التى أجريت على امتداد ثلاثة مواسم التى استخدم فيها هذه السلالات من الباسيلليس لوحظ انخفاض المجموع الطبيعى لمفترسات نوتونكتا يونيفاسكياتا، نوتونكتا أنديولاتا وكذلك أنواع Buenoa خلال المعاملات. فى نفس الفترة لوحظ نمو فى مجاميع هذه المفترسات بسرعة بنفس اتجاه النمو فى البرك غير المعاملة وأماكن المقارنة. فى احدى الدراسات التى أجريت فى فلوريدا لاحظ الباحث Purcell (١٩٨١) حدوث خفض فى مجموع N. indica وBuenoa elegans بعد المعاملة ببكترياBT اسرائيلينسيز وقد أرجع ذلك الى نشاط الطيران لجشرات البق هذه. فى هذه الدراسات كانت أعداد الحصربعد يوم من المعاملة مقارنة لأعداد ما قبل المعاملة دون أن تصاحب احصائيات المجاميع غير المعاملة. لقد سادت أنواع نوتونكتا منطقة ويتلاند مارس فى كاليفورنيا ولكن بأعداد قليلة. لم تتأثر مجاميع هذا النوع عكسيا من جراء استخدام مستحضرBT اسرائيلينسيز بمعدل ٠,٨كجم/هكتار وفى الحقيقة زادت المجاميع بعد المعاملة. فى أماكن معيشة تحاكى ما هو موجود فى الحقول لاحظ Sebmstien and Brust (١٩٨٠) خفض حوالى ٥٠% فى أنواع نوتونكتا التى عرضت التركيز١٢ جزء فى المليون من مستحضرBT اسرائيلينسيز من انتاج شركة أبوت بينما لم يلاحظ خفض بعد المعاملة بمستحضر من

انتاج شركة Biochem مع ملاحظة أن كفاءة الاخير تساوى من ٥-١٠مرات مثل مستحضر أبوت. فى عدم وجود مجموع تجريبى للمقارنة وبسبب تنوع واختلاف المستحضرات فان القول بأن مستحضر ما هو الذى سبب قتل مفترسات نوتونكتا لا يجد من يعضده. لقد خلص الباحثون الى أن المفترسات البالغة من النوتونكتيد متحركة وتميل الى الهجرة عند نقص كثافة الضحية أو عندما يصبح مكان المعيشة غير مناسب.

د- حشرات غمدية الاجنحة Coleoptera:

أفراد عائلات Dytiscidae (خنافس الغوص diving beetles) وHydrophylidae (خنافس الماء الكاسحة Scavenger) من المفترسات الهامة والتى تعتبر مفتاح السيطرة على وتنظيم مجاميع يرقات البعوض. هذه المفترسات تغذو وتحتل أماكن المعيشة المائية فى غضون ١-٢ أسبوع بعد الفيضان. اليرقات الصغيرة والناضجة التى تصل الى قمة المجموع خلال ٢-٣ أسابيع بعد الفيضان تتغذى على يرقات البعوض وغيرها من الاحياء المائية. خلال الدراسات التى تناولت تقييم بكتريا BT اسرائيلينسيز و B سفيريكس لم تلاحظ أية تأثيرات عكسية على يرقات هذه الخنافس. أظهرت دراسات لاحقة على امتداد ثلاثة مواسم أن المعاملة بهذه البكتريا بالمعدلات القاتلة ليرقات البعوض لم تؤثر سلبيا على يرقات خنافس هذه العائلات. لقد وجدت أعداد كبيرة من يرقات الخنافس خلال وقت المعاملة الثانية فى مكافحة البعوض. لقد كانت اتجاهات المجموع فى الاماكن المعاملة وغير المعاملة متشابهة. أظهرت دراسة أخرى فى كاليفورنيا عدم وجود تأثيرات معاكسة على يرقات الخنافس بواسطة BT اسرائيلينسيز بعد المعاملة بمعدل ٠,٨كجم/هكتار فى أماكن المعيشة. التعرض فى المعمل لأنواع عديدة من الخنافس المائية التى جمعت فى الحقل لتركيز ١٨٠جزء فى المليونBT اسرائيلينسيز سببت قليل أو لم تسبب وفيات فى الخنافس البالغة. بناء على البيانات المتوفرة خلص البحاث الى أن كلا الممرضات الحشرية ليس لها أية تأثيرات معاكسة على يرقات خنافس Dytiscid أو Hydrophilid بمعدلات قاتلة ضد اليرقات.

هـ- ثنائية الاجنحة/الهاموش Diptera/chironomidae: هاموش الكايرونوميد يرتبط بشدة بالبعوض وهو يعتبر من أكثر حشرات ثنائية الاجنحة السائدة والمؤثرة التى تعيش فى المياه حيث اماكن توالدها فى المياه الجارية والساكنة على حد سواء. توجد يرقاتها فى حيوانات القاع benthos والطحالب والنباتات الجذرية والطافية وغيرها

من الوسائط. يرقات بعض الأنواع مغذيات للمرشحاتFilter feeders. بينما البعض الاخر يعمل كراعيات للعشب browsers أو كمفترسات predators. الهاموش يحتل بصفة مؤقتة أو دائمة المصادر المائية حيث أن معظم أماكن معيشة يرقات البعوض تعضد التجميع الوفيرة لها. عند تخرج حشرات الهاموش فى أعداد كبيرة من أماكن المعيشة بالقرب من تواجد الانسان فإنها تسبب مشكلة وتحدث ضيق بين الناس ولكنها وبأى مفهوم نافعة بسبب الدور الهام الذى تلعبه فى الشبكة الغذائية. لذلك فانه فى برامج مكافحة الناقلات حيث أن الهاموش لا يمثل مشكلة كافة يتم معاملة مبيدات اليرقات التى لا تضر بيرقات الهاموش. الدراسات الخاصة بتأثيرات الباسيلليس على يرقات الهاموش قليلة ومحدودة. حيث أن سلوك التغذية يختلف من مجموعة لأخرى أو من نوع لآخر فانه يتوقع أن المجاميع المختلفة ستكون ذات حساسية مختلفة لهذه الميكروبات المرضية.

١- دراسات معملية (باسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع اسرائيلينسيز):

أظهرت البحوث حتى الان أن بعض يرقات هاموش الكيرونوميد ذات حساسية منخفضة لبكترياBT اسرائيلينسيز بينما أظهرت بحوث أخرى أنها تتأثر بواسطة B سفيريكس. لقد أجرى Ali وأخرون ١٩٨٠-١٩٨١ دراسات على يرقات أربعة أنواع من الكيرونومين فى المعمل فى فلوريدا. لقد تم اختبار أربعة تجهيزت منBT اسرائيلينسيز ضد هذه اليرقات مع اعتبار أو دون اعتبار لغذاء اليرقات. حساسية الانواع المختلفة للتجهيزات العديدة من هذه البكتريا مدونة فى الجدول (٤- ٩) مع قيم LCq5 مللجم/لتر (جزء فى المليون) للأبيديس إيجيبتى. من هذا الجدول يتضح أن يرقات الهاموش أقل حساسية لبكترياBT اسرائيلينسيز حيث كانت ذات تحمل ١٣-٧٥ مرة أكثر من يرقات البعوض للتجهيزات المختلفة. توفير الغذاء لليرقات يزيد من تحملها وهو ما يحاكى الظروف الحقلية. الهاموش كانت أقل حساسية لبكترياBT اسرائيلينسيز حيث كان تحملها ١٣-٧٥ مرة عن يرقات البعوض لمختلف المستحضرات. تقديم وتوفر الغذاء لليرقات زاد من تحملها وهى الظروف التى تحاكى ما يوجد فى الحقل عن قرب. لقد لوحظ أن يرقات العمر الاول فى G. paoipes كانت أكثر حساسية بمقدار١٠-١٤ مثل عن يرقات العمر الثالث. لقد أظهرت هذه النتائج المستوى المنخفض من حساسية يرقات الهاموش (خاصة العمر الثالث) لبكترياBT اسرائيلينسيز. لقد وجد بعض البحاث حدوث موت كامل بعد التعرض لتركيز ١,٨ جزء

فى المليون منBT اسرائيلينسيز لمدة ٤٨ ساعة بدون غذاء. لقد كانت الجرعة القاتلة حوالى ٥-١٠مرات التركيز القاتل ليرقات البعوض فى هذه المنطقة.

جدول (٤-٩): حساسية يرقات الكيرونوميد ويرقات البعوض لمستحضرات باسيلليس ثورينجينسيز تحت النوع اسرائيلينسيز

النوع والمستحضر الميكروبى Species and microbial preparation	الطور Instar	بدون غذاء No feed	مع الغذاء With feed
Glyptotendipes (midge)			
IPS- 78 (LY)	3rd	13.1	29.7
R- 153- 78 (WP)	1st	-	1.3
	3rd	9.8	13.3
ABG-6108 (WP)	1st	-	2.8
	3rd	32.4	38.6
SAN-402 (WDC)	1st	-	3.7
	3rd	23.6	37.7
Chironomus crassicaudatus (midge)			
IPS- 78 (LY)	3rd	10.5	15.9
R- 153- 78 (WP)	3rd	4.9	6.8
ABG-6108 (WP)	3rd	47.0	-
SAN-402 (WDC)	3rd	28.3	36.5
C. decorus (midge)			
IPS- 78 (LY)	3rd	8.6	10.8
R- 153- 78 (WP)	3rd	4.6	8.2
ABG-6108 (WP)	3rd	30.8	34.7
SAN-402 (WDC)	3rd	27.0	-
Aedes aegypti (mosquito)[a]			
IPS- 78 (LY)	3rd	0.19	0.51
R- 153- 78 (WP)	3rd	0.13	0.32
ABG-6108 (WP)	3rd	0.88	2.01
SAN-402 (WDC)	3rd	0.99	2.39

[a] 24-h lethal concentration.
From Ali, A., Baggs, R. A., and Stewart, J. P., J. Econ. Entomol., 74, 672, 1981. With permission.

فى دراسة أولية أجريت فى كاليفورنيا بواسطة Garcia وأخرون (١٩٨٠) تم تحفيز مستويات منخفضة وحتى العالية من الموت فى بعض حشرات ثنائية الاجنحة الشبكية nematocerous بما فيها أنواع Dixa (Dixidae) و Palpomy ia sp (Ceratopogoridue) والعديد من عائلات Chironomidae مع جرعات من BT اسرائيلينسيز فى مستحضرات من ٥٠- عدة مئات أكبر من التركيزات المستخدمة فى مكافحة البعوض. لم تقام خطوط العلاقة بين الجرعة والاستجابة كما لم تسجل حالات

خاص وليس على القسم الكبير من المركبات الكلورينية العضوية. جدول (٨-٦) يوضح النقاط الهامة في الدراسات المحددة.

تناولت بعض الدراسات دراسة العلاقة بين التعرض المنزلي والمهني لمبيدات الآفات وسرطانات الجهاز التناسلي الأنثوي بخلاف سرطان الصدر ولم تركز أي من الدراسات على التعرض للمبيدات الحشرية. الدراسات التي تناولت فحص خطر سرطانات عنق الرحم والمبايض والرحم فينقصها معلومات عن التعرض للمبيدات الحشرية وفي الغالب تتضمن أعداد متناهية في الصغر (مثل دراسات Fleming وآخرون (١٩٩٩ – أ-ب)، Wessling وآخرون ١٩٩٩).

نتائج ثلاثة دراسات حالة – مقارنة عن تركيزات سيرم الدم مع المبيدات الكلورينية العضوية بما فيها اللندين ومشابهاته والتي جمعت قبل تشخيص حدوث سرطان الصدر وخطر سرطان الصدر كانت سالبة. لقد قام Ward ومعاونوه (٢٠٠) باجراء دراسة حالة – مقارنة في النرويج عن خطر سرطان الصدر والمبيدات الكلورينية في السيرم في جماعة من مانحي الدم في بنك الدم من السيدات بعدد ٢٥٤٣١ في الفترة من ١٩٧٣-١٩٩١. لقد تم تقدير ٧١ مركب كلوريني عضوي بما فيها HCH وما يعرف باللندين. لم تجد الدراسة أي دليل عن التركيزات العالية في السيرم لأي من هذه المركبات في الحالات أو أي اتجاه لزيادة الخطر مرتبطة بالتعرض لكميات عالية من اللندين (OR = ٠,٧).

دراسة حالة – مقارنة أخرى تناولت تقييم الارتباط بين تركيزات المركبات الكلورينية العضوية بما فيها اللندين وبتيا HCH في السيرم وخطر سرطان الصدر باستخدام عينات بنك الدم في مركز سرطان الصدر في ميسوري بكولومبيا حيث تم تشخيص ٧٢٢٤ من السيدات المصابات بسرطان الصدر في الفترة ١٩٧٧-١٩٨٧ (Dorgan وآخرون ١٩٩٩) . لم تتوصل الدراسة إلى زيادة الخطر من سرطان الصدر في السيدات اللاتي يحتوي سيرم الدم فيهن على تركيزات عالية من المبيدات الكلورينية (OR = ٠,٦) .

في دراسة ثالثة حالة – مقارنة قام الباحث Hoyer ومعاونوه (١٩٩٨) بمقارنة تركيزات السيرم من ١٨ مبيد كلوريني عضوي في عينات الدم الأساسية من ٢٤٠ حالة مصابة بسرطان الصدر مع ٤٧٧ من المقارنة تم اختيارهم من المشاركين في دراسة عن القلب في مدينة كوبنهاجن. لقد وجد البحاث عدم ارتباط مع اللندين أو أي مبيدات كلورينية أخرى مثل الددت، دداي PCB بينما زاد خطر سرطان الصدر مع المستويات العالية من B-HCH (OR=١,٢٦).

لقد قام Zheng ومعاونوه (١٩٩٩) بمقارنة مباشرة على البنزين هكسا كلوريد (BHC / في الأنسجة الدهنية في الصدر من ٣٠٤ حالة مرضى بسرطان الصدر مع ١٨٦٩ حالة مرضى بورم الصدر الحميد benign كمقارنة. لقد وجد الباحثون عدم وجود ارتباط بين مشابهات BHC (بما فيها اللندين) وخطر سرطان الصدر. لقد وجد ارتباط عكسي مع خطر سرطان الصدر في الأفراد

الذين شملتهم الدراسة (OR لمشابه B-BHC تساوي ٠,٦) وكذلك بين النساء قبل وبعد سن اليأس menopausal عندما تمت مقارنة أعلى كمية BHC في النسيج الدهني مع أقل كمية.

جدول (٨-٦) : دراسات وبائية مختارة : سرطان الصدر والتعرض للمبيدات الحشرية

Reference	Study Population	Exposed Cases	Estimated Relative Risk (95%CI)
Lindane and Related Isomers - *Cohort Studies*			
Ward et al., 2000	Female serum bank donors in Norway		
	y-HCH	7	0.7 (0.1-4.0)[a]
	β-HCH, highest quartile of lipid-adjusted data	144	0.7
Dorgan et al., 1999	Female serum bank donors in Columbia, Missouri		
	Highest quartile of serum β-HCH	27	0.6 (0.3-1.3)
Hoyer et al., 1998	Female serum samples from Copenhagen City Heart Study		
	Highest qyartile of serum β-HCH	63	1.36 (0.79-2.33)[b]
Case-Control Studies			
Zheng et al., 1999	Breast adipose tissue from women in Connecticut		
	Highest quartile of serum β-HCH	77	0.6 (0.3-1.1)
Mussaio-Rauhamaa et al., 1990	Breast tissue from women in Helsinki		
	B-HCH	24	10.51 (2.00-55.26)[c]

[a]OR calculated from discordant pairs. [b]Adjusted analysis.

[c]Controlled for age and parity.

السرطانات البولية Urologic Cancers :

سرطانات القناة التناسلية أو البولية تشمل أورام البروستاتا والخصيات والمثانة البولية والكلى والقناة البولية . السرطانات البولية تصل إلى ٤١% من كل السرطانات في الرجال في مقابل ٤% في السيدات (ACS , ٢٠٠٢-a) . سرطان البروستاتا يمثل حوالي ٣٠% من كل السرطانات في الرجال مما يجعله أكثر السرطانات شيوعاً باستثناء سرطانات الجلد في الرجال الأمريكان . من أكبر عوامل الخطر العمر حيث أن معظم الحالات في الرجال تحدث فوق سن ٦٥ سنة . العوامل الأخرى تشمل التاريخ الأسري من حيث سرطان البروستاتا والسلالة (سرطان البروستاتا يحدث بنسبة ٧٠% في الرجال السود أكثر منه في الرجال البيض) ومع الغذاء العالي للدهون (٢٠٠٢-q) .

٣- دراسات معملية على B سفيريكس (B. spharicus):

باستخدام يرقات C. crassicaudatus و C. paripes المجموعة من الحقل وجد الباحثان Ali and Nayar (١٩٨٦) أن هذه الانواع غير حساسة بشكل كامل للمساحيق التجريبية الاولية من B سفيريكس ٢٣٦٢،١٥٩٣. لقد تم حساب قيمة LC50 بأكثر من٥٠ جزء فى المليون وهو تركيز متناهى فى العلو حيث تساوى ١٠٠٠٠مرة أكثر من الجرعة السامة لبعوض الكيوليكس كوينكيو فستياكس. على نفس المنوال وجد بحاث أخرون أن يرقات الهاموش المجموعة من الحقل غير حساسة بشكل كامل لهذه الوسيلة الميكروبية. لقد كانت قيم LS50 تساوى٢٨٠ جزء فى المليون للسلالتان (15a3M و 2362) وهى تساوى ٥٠٠٠٠ ، ٢٥٠٠٠٠ مرة مثل التركيزات القاتلة ليرقات البعوض. لذلك فانه من الثابت أن يرقات الهاموش تقاوم هذا المرض ضد الحشرات.

٤- دراسات حقلية على بكتريا B سفيريكس: مع المعاملات القاتلة ليرقات البعوض لم يؤثر هذا الممرض عكسيا على مجاميع يرقات الهاموش فى المياه الجارية على امتداد ٤٨ يوم حيث أجرى خلالها معاملتان. لقد تأكد فى دراسات أخرى فى منطقة كاليفورنيا أن استخدام B سفيريكس سلالة ٢٣٦٢، AS ومسحوق ABG-6184 عند معدلات ٢٢، ١١كجم/ هكتار على التوالى أظهرت قليل أو عدم خفض فى مجاميع الهاموش. هذه المعدلات تساوى ٥٠-١٠٠ مرة مثل المعدلات القاتلة ليرقات البعوض. لذلك يمكن القول أن B سفيريكس لا يغير يرقات الهاموش بوجه عام.

و- **ثنائية الأجنحة / كيوليسيدى / توكسورينكيتيس SSP:** يرقات البعوض لجنس توكسورينكيتس تعتبر مفترسة جيث تتغذى اجباريا على يرقات الانواع الاخرى من يرقات البعوض التى تتربى فى الاوانى. الحشرات الكاملة من بعوض توكسورينكيتس تقدم الفائدة الاخرى من عدم أخذ وجبات الدم. لذلك أجريت محاولات مستفيضة لاستخدامها فى المكافحة البيولوجية لبعوض الاوانى مثل الابيديس ايجيبتى. فى مجهودات المكافحة المتكاملة فان دمج مبيدات اليرقات مع مبيدات الحشرات البالغة مع المفترسات والمناورة البيئية تقدم مكافحة فعالة ومتوافقة compatible ومتكاملة complementary على العبوض الافة والناقل. قبل دمج وتكامل هذه الوسائل مثل BT اسرائيلينسيز، B سفيريكس وغيرها من التوكسورينكيتس يكون من الضرورى تقييم تأثيراتها الضارة على التوكسورينكيتس. أظهرت الاختبارات المعملية عدم حدوث تأثير منBT اسرائيلينسيز على يرقات

أنواع التوكسورينكيتس فى غياب الضحايا والتحمل النسبى للجرعات المستخدمة من البكتريا فى وجود الضحايا. لقد أظهر العديد من الدراسات عدم حساسية التوكسورينكيتس لبكتريا B سفيريكس حتى تركيزات متناهية فى العلو فى وجود الضحايا بالرغم من حساسية التوكسورينكيتس روتيليس لعزلات الطرز السيرولوجية 5a و5b من B سفيريكس الا أنها لم تتأثر بالتركيزات العالية من عزلة 2297 (طرز سيرولوجى ٢٥) فى وجود الضحية. قلة الكفاءة أو الكفاءة المنخفضة لبكترياBT اسرائيلينسيز وB سفيريكس على توكسورنيكيتينى تمكن من استخدام مخلوط من هاتين الوسيلتين.

س- **القشريات** Crustacea: مجموعة الكائنات تحتوى على عدد كبير من أنواع المياه العذبة والعديد منها يعيش مع البعوض. توجد القليل من الابحاث التى تناولت القشريات وما يحدث لها مع معاملات سلالات البكترياBT اسرائيلينسيز أوB سفيريكس. فى دراسة معملية وجد أن الكائن البحرى ايلاسموبس بامبو تتحمل بكترياBT اسرائيلينسيز "باكتيموس" مع قيمة LCq5 فى مدى ٢٨مللجم/لتر وهذا التركيز يزيد بمقدار١٠٠-٢٠٠مرة عن جرعة المستحضر القاتل ليرقات البعوض. فى احدى الدراسات التى أجريت فى الهند على سلالتين منB سفيريكس (1593M، 2362) تم اختبارهما على القشريات المجموعة من الحقل وقد وجد أن الدافنيا والجمبرى لم تتأثر بالجرعات العالية جدا من هاتين السلالتين. السلالة 1593M أثرت على S. dicodtmus مع جرعة أكبر من٢٥٠٠ ضعف التركيز القاتل ليرقات بعوض كيوليكس بينما كان للسلالة 2362 بعض التأثيرات مع تركيز يزيد ١٥٠٠٠مرة عن التركيز القاتل ليرقات البعوض. على نفس المنوال وجد أن D. Similis لم تتأثر فيما عدا مع التركيزات العالية جدا حوالى ٤٠٠٠-٢٧٠٠٠ مرة التركيز القاتل ليرقات البعوض من هاتين السلالتين.

ص- **الكائنات غير المستهدفة المتنوعة** NTO's: أظهرت الدراسات الاولية على تأثيراتBT اسرائيلينسيز على مدى عريض من الكائنات غير المستهدفة تأثيرات ضارة قليلة جدا لهذة البكتريا. لقد وجد أن Tubifex tubifex غير حساس حيث كانت LC50 فى مدى ٥-٢٠ ألف مثل عن المعدلات القاتلة ليرقات البعوض. أدى التعرض الطويل لجرعات تحت قاتلة منB سفيريكس الى خفض التغذية وتأخير النضج وغيرها من التأثيرات الضارة فى Laccotrephes griseus.

خلاصة القول أنه بناء على نتائج الدراسات الكثيرة التى أجريت على مدى واسع من أماكن المعيشة أن المساحيق والمستحضرات الاولية لبكترياBT اسرائيلينسيز و B سفيريكس ذات اختيارية عالية فى مكافحة الناقلات والافات من Nematocera مع أقل تأثير معاكس على البيئة.

REFERENCES

- Ali. A.. Nuisance chironomids and their control: a review. Bull. Entomol. Soc. Am.. 26. 3. 1980.
- Back. C., Boisevert. J., Lacoursiere. J. O., and Charoentier, G., High-dosage treatment of a Quebec stream with Bacillus thuringiensis serovar. israelensis efficacy against black fly larvae (Diptera: Simuliidae) and impact on non-target insects. Can. Entomol., 117. 1523. 1985.
- Davidson, E. W., Bacillus sphaericus as a icrobial control agent for mosquito larvae, in Integrated Mosquito Control Methodologies, Laird, M. and Miles, J., Eds., Vol. 2, Academic Press, New York, 1985, 213.
- Garcia, R., Des Rochers, B., and Tozer, W., Studies on the toxicity of Bacillus thuringiensis var. israelensis against organisms found in association with mosquito larvae, Proc. Calif. Mosq. Vect. Cont. Assoc.. 84, 33. 1980.
- Lacey. L. A., Larvicidal activity of Bacillus pathogens against Toxorhynchites mosquitoes (Diptera: Culicidae). J. Med. Entomol., 20. 620, 1983.
- Mulla, M. S., Efficacy of the microbial agent Bacillus sphaericus Neide against mosquitoes (Diptera: Culicidae) in southern Calfornia. Bull. Soc. Vector Ecol., 11, 247, 1986.
- Mulla. M. S., Drawazeh. H. A., Davidson. E. W., Dulmage, H. T., and Singer. S.. Larvicidal activity and field efficacy of Bacillus sphaericus strains against mosquito larvae and their safety to nontraget organisms. Mosq. Mews, 44. 336, 1984.

- Mulla, M. S., Federici, B. A.m and Darwazeh, H. A., Larvicidal efficacy of Bacillus thuringiensis serotype H-14 against stagnant-water mosquitoes and its effects on nontraget organisms, Environ. Entomol., 11, 788, 1982.
- Mulla M. S., Norland, R. L., Fanara, D. M., Darwazeh, H. A., and Mckean, D. W., Control of chironomid midges in recrational lakes. J. Econ. Entomol., 64, 300, 1971.
- Reish, D. J., LeMay, J. A., and Asato, S. L., The effect of BTI (H-14) and methoprene on two species of marine invertebrates from southern California estuaries, Bull. Soc. Vector Ecol., 10, 20, 1985.
- Schnetter, W., Engler, S., Morawcsik, J., and Becker, N., Wirksamkeit von Bacillus thuringiensis var. israelensis gegen Stechmuckenlarven und Nontarget-Organisms, Mitt. Dtsch. Ges. Allg. Angew. Entomol., 2, 195, 1981.
- Sebastien, R. J. and Brust, R. A., An evaluation of two fprmulations of Bacillus thuringiensis var. israelensis for larval mosquito control in sod-lined simulated pools, Mosq. News, 41, 508, 1981.
- Singer, S., Use of bacteria for control of aquatic insect pests, in Impact of the Use of Microoganisms in the Aquatic Environment. Ecological Research Series, Bourquin, A. W., Ahearn, D. G., and Meyers, S. P., Eds., Environmental Protection Agency Publication EPA-660/3-75-001, 1975, 5.
- Walsh, J. F., The feeding behaviour of Simulium larvae, and the development, testing and monitoring of the use of larvicides, with special reternce to the control of Simulium damnosum theobald s.1. (Diptera: Simuliidae): a review, Bull. Entomol. Res., 75. 549, 1985.
- WHO. Data sheet on the biological control agent Bacillus thuringiensis serotype H-14 (de Barjac, 1978), mimeographed document, WHO/VBC/79.750, Rev. 1, VBC/BCDS/79.01, Wprld Health Organization, 1979.

الباب الخامس

اعتبارات الامان لأنواع بكتريا باسيلليس والوسائل الحيوية الفطرية والنيماتودية ومتطلبات التسجيل

الفصل الأول: اعتبارات أمان استخدام باسيلليس بوبيلا المرض المسبب للمرض اللبنى فى رتبة الجعال *scarabidae*

الفصل الثاني: أمان وسائل المكافحة الحيوية الفطرية والنيماتودية على اللافقاريات غير المستهدفة الهامة اقتصاديا كآفات

الفصل الأول

اعتبارات أمان استخدام باسيلليس بوبيلا

الممرض المسبب للمرض اللبنى فى رتبة الجعال *scarabidae*

١- مقدمة:

الدراسات المرجعية عن مجموعة ممرضات باسيلليس بوبيليا والمرض اللبنى ليرقات خنافس الجعال "سكرابيد" والتى تسمى بوجه عام الجعارين البيضاء تشمل ما يزيد عن ٣٠٠ بحث بما فيها الاستعراضات المرجعية الرئيسية التى تغطى نواحى التقسيم البكتيرى والتخصص العوائلى والمرضية والتحكم الفسيولوجى فى النمو والتجرثم والمشاكل المرتبطة بالمزارع البكتيرية فى خارج أجسام العوائل والوبائية الحيوانية *epizootiology* امتدادا للدراسات المرجعية على بيولوجية العائل وتطبيقات استخدام *B. popilliae* كمبيد حشرى. العديد من مثل هذه الدراسات المرجعية ناقشت باختصار ما يتعلق بالامان والنواحى البيئية المرتبطة بهذه المجموعة من الممرضات الاجبارية افتراضا. هذه الاصدارات وجهت ونشرت فى مراجع عامة تحت مضمون أمان المبيدات الحشرية الميكروبية كأحد الاقسام الرئيسية فى هذا الخصوص. معظم اختبارات الامان التى عضدت تسجيل الباسيلليس بوبيليا كمبيدات حشرية ميكروبية فى أمريكا لم تنتشر بما فيه الكفاية. تقريبا معظم هذه الاختبارات أجريت على الجراثيم التى تنتج فى الخارج *in vitro* أو على مستحضرات الجراثيم. هذه الدراسات المرجعية تناولت تفصيلات الامان مع فحص صلتها الوثيقة بالمستحضر الجديد لجراثيم البوبيليا الناتجة فى الخارج *in vitro* والتى سجلت حديثا بواسطة وكالة حماية البيئة الامريكية *(EPA)*

٢- الاستعراض التاريخى *Historical Review*

أ- حالة المرض اللبنى *Milky disease*:

الاسم "المرض اللبنى" يصف اللون الابيض مثل اللبن للهيموليف المأخوذ فى يرقات الجعال "سكرابيد" فى حالة شدة العدوى بالاطوار الجرثومية لمجموعة ممرض باسيلليس بوبيليا. ولو أن العديد من الانواع تم تعريفها فى السابق على أساس الاختلافات فى التراكيب المورفولوجية أو التفضيل العوائلى فان معظم المراجع

التقسيمية الحديثة تميز أنواع فردية مع عدد من تحت الانواع. الاطوار الخضرية لهذه الصور تتميز بأنها هوائية، قضبان مكونة للجراثيم تنمو فى الخارج فقط علـــى بيئـــة معقدة. النموات الخضرية سالبة للكتاليز، لا هوائية اختيارية، مقيدة مع درجات حرارة بين ١٧-٣٤°م. الجراثيم البيضية تحمل عدد من الحواف الطويلة وتتطــور مركزيــا داخل الكيس الجرثومى بشكل ملحوظ والتى لا تستطيل خلال التشــكل المورفولــوجى للجراثيم *morohogensis*. الاجسام البارا جرثومية العنيدة أو المقاومة *refractory* ذات الارقام من صفر الى ٢ كخاصية أو مواصفة لتحت النوع قد تتطور أيضا داخل الكيس الجرثومى خلال التشكل المورفولوجى البارا جرثومية (فى حالة وجود الاخيرة) تتراكم فى الهيموليمف للجعارين المصابة لتركيزات أعلى من ٢- ٣x ١٠^١٠ كيس جرثــومى لكل ملليلتر. هذه الاكياس الجرثومية لا تتحلل ذاتيا بما يحرر الجراثيم الحرة أو بلورات البارا جراثيم فى الهيموليمف. سبب الموت فى الجعال المصاب قــد يكــون التجويــع الفسيولوجى حيث أنه لم يثبت وجود أو اشتراك مركبات سامة فى العملية. كل هــذه الخصائص الاخيرة تميز كعلاقات نشوء مركزية بين الممرضـــات الحشــرية قريبــة الارتباط فى مجموعة باسيلليس بوبيليا وكذلك عوائلها الحساسة من الجعال ســكرابيد. هذه الخصائص ذات أهمية مساوية للفاعلية والامان البيئى للمبيدات الحشرية الميكروبية من *B* بوبيليا.

ب- الاكتشاف والتطبيق *Discovery and application*:

بالرغم من أن الخنفساء اليابانيـــة *popillia japonica* دخلـــت عرضـــيا فـــى الولايات المتحدة الامريكية (بالقرب من ريفرتون بنيوجيرسى) فى عـــام١٩١٢ إلا ان دورها المؤثر فى الضرر الاقتصادى وانتشارها السريع جعل منها هدفا لبرامج مكثفـــة على المستوى الفيدرالى بحلول عام١٩١٧. ما بين ١٩٢٢و١٩٣٣ وجـــد أن يرقـــات الخنفساء من مواقع حقلية مفصولة وعريضة مصابة بعدد من البكتريا غيـــر المعرفـــة *unidentified* والفطريات كذلك لدرجة أن٥٠%من الجعال المجمـــوع فـــى الخريـــف لأغراض التجريب خلال الشتاء فقدت بسبب المرض. لقد تم تمييز ثلاثة مظاهر مـــن الاعراض من المظهر العام للجعال الميت. فى المجموعة الاولـــى كانـــت الجعـــارين *grubs* مغطاة بهيفات الفطر. كانت حشرات المجموعة الثانية غامقة اللـــون (أحمـــر- أخضر- بنى- اسود) وكانت تبدو مصابة بالعديد من الكائنات الدقيقـــة أمـــا جعـــارين

المجموعة الثالثة كانت بيضاء ومملوءة بالكائن ا-نتج للجراثيم فى صورة مزرعة نقية تقريبا.

فى فترة خمس سنوات بدأت فى عام ١٩٣٤ تم دراسة البكتريا المسببة للمرض اللبنى والمسئولة عن اللون الابيض بشكل مكثف بواسطة الباحث *Dutky* ومعاونوه (١٩٤٠، ٧٥،٦٣). الكائنات المزعومة التى تسبب المرض وصفت على أنها نوعان من البكتريا باسيلليس بوبيليا والتى تكون بلورة فردية من الباراجرثومية خلال التجرثم وكذلك *B. lentimorbus* (الان تعتبر نوع من *B* بوبيليا) والتى لا تكون بلورات الباراجرثوميات. لقد تأكد دورها كمسببات للمرض اللبنى من خلال سلسلة من معلقات الجراثيم التى تم تسخينها لدرجة٨٠°م لمدة ١٠ دقائق. لم يتم الوثوق أو تحقيق كل متطلبات ومبادئ كوخ *Koch's postulates* فى ذلك الوقت حيث أن تحت النوعين قيل أنهما ينموان بقلة أو لا ينموان اطلاقا على معظم البيئات كما أن جميع المزارع التى تنتج فى الداخل *in vivo* أظهرت بقاء فى صورة حية لسنوات عديدة فى التربة. الملاحظات المبكرة عن العدوى والانتاجية (زيادة ١٠٠٠ مرة عن الجراثيم التى استخدمت فى العدوى) من الجعال المحقون والمجموع من الحقل وضعت الاساس لطريقة التربية المكثفة والانتاج الغزير. مساحيق الجراثيم المجهزة من عجينة جافة من كربونات الكالسيوم والجعال المصاب المهروس خففت بواسطة بودرة التلك للتركيز النهائى١x ١٠^٨ جراثيم لكل جرام وتم تعريضها لاختبارات حقلية أولية للوقوف على الفاعلية وكذلك اختبارات أولية عن الامان على الطيور.

عندما استخدم مستحضر البكتريا فى صورة مسحوق على المسطحات الخضراء والمصابة بخنافس الجعال اليابانية (فى معاملات موضعية *Spots* بمعدل ١,٦٧جم لكل بقعة على مسافات ١,٢٢متر) بدأت ظهور وبائى موضعى *localized apizootics* للمرض اللبنى. بناء على هذه البيانات مع الدلائل الاخرى من عدم وجود ما يشير الى الانبات أو النمو أو التأثيرات السامة للباسيلليس بوبيليا التى غذيت لطائر الزرزور والدواجن وكذلك ملاحظات عدم حدوث حساسية أو التهابات بين العمال الذين يتداولون الجعال المصاب. أو المساحيق الجرثومية المنتجة تم تقديم طلبات عديدة للعديد من الوكالات الحكومية (مكتب الحجر الحشرى والنباتى، مكتب الصناعات الحيوانية، مكتب الصناعات النباتية، قسم النحل، وزارة الزراعة الامريكية *(USDA)* ومكتب خدمات الصحة العامة الامريكى) للحصول على موافقة الحكومة على استخدام مستحضرات الجراثيم من خلال البرنامج الفيدرالى التعاونى. لقد تم الحصول على

موافقة الحكومة وخلال ١٤عاما ما بين ١٩٣٩-١٩٥٢ تم استخدام واستهلاك ما يقرب من ٨٣٦٠٠ كجم من المسحوق (الناتج من ٤-٥ مليون حشرة جعال محقونة ومجموعة من الحقول) فى ١٩٤٠٠موقع مختلف فى ١٤ ولاية شرقية (أمريكا) وفـى مقاطعـة كولومبيا وفى مساحة إجمالية تقارب ٤٢٠٠ هكتار. لقد بدأ الانتاج التجارى لمسـحوق الجراثيم تحت الترخيص الحكومى غير الاجبارى تبعا لطريقة التحكم ديـوتكى ١٩٤١ و١٩٤٢ فى ظل الحماية فى منتصف الاربعينيات ومـا زالـت مسـتمرة فـى ظـل البروتوكولات الأساسية.

جـ- المدى العوائلى وتخصص الممرض/العنفوانية:

لم تنجح محاولات احداث العدوى فى *B* بوبيليا فى مختلف الحشـرات غيـر الجعالية "سكرابيد". لقد خلص *Dutky* ١٩٦٣،١٩٧٥ الى أن الجراثيم المحقونـة فـى يرقات الذباب المنزلى عزلت بالتدريج بواسطة أنسجة الجسم الدهنى قبل التعذر ولكنها عاودت الظهور عندما تم تحليل أنسجة اليرقات خلال التشكل *metamorphosis*. لقـد أشار كذلك أن الجراثيم والقضبان الخضرية ليست لها تأثيرات على تطور يرقات دودة الشمع جاليريا ميلونيلا. لقد فشل *Aizawa* (١٩٦٧) فى احداث عدوى فى دودة الحرير بواسطة الباسيلليس بوبيليا تحت النوع بوبيليا أو تحت النوع لنتيموريس فى المعمـل. العدوى الطبيعية بالمرض اللبنى كما تشخص عن طريق تراكم الباسيللاى المتجرثمـة مع الاكياس الجرثومية غير المتحللة والمنتفخة سجلت فقط فى خنافس عائلة سكرابيدى.

لقد أجريت دراسات عديدة فى المعمل عن عدوى *B* بوبيليـا تحـت الانـواع المختلفة عن طريق الحقن والتغذية على الصور الجرثومية و/أو الخضرية. تلك الطرق التى تستخدم عن طريق التناول الفمى *Per os* تعتبر وثيقة الصلة بما يحدث فى الحقل ومع هذا فان البيانات الفعلية من الحقل نادرة جدا. من الدراسات على *B* بوبيليا تحـت النوع روبيبا اقترح الباحث *Milner* (١٩٧٤-١٩٨٤) أن المدى العوائلى الفعال لتحت النوع يحتمل أن يقتصر على قليل من الانواع من جنس مفرد. الدراسـات المعمليـة والحقلية التى أجريت فى الولايات المتحدة الامريكية على سلالات *B* بوبيليا المرتبطة بافات الجعال المتوطنة والوافدة تعضد هذه العموميات جزئيا. لقـد وجـد *Tashiro* أن السلالة التجارية من *B* بوبيليا التى استخدمت فى مكافحة الخنفساء اليابانية كانت تحدث عدوى مساوية فى جعارين الخنافس الاوروبية "ريزوتروجس مجاليس" على الاقل فى المعمل. على العكس فان الجرعات القياسية لسلالة *DeByrne* للجعال *B* بوبيليا تحـت

النوع بوبيليا وسلالة أمفيمالون للجعال *B* بوبيليا تحت النوع لينتيموريس وكلاهما عزلا من مواقع حقلية ذات اصابات وبائية بين الجعارين الاوربية أحدثت عدوى من ١- ١٠% فقط على الخنفساء اليابانية على نفس النسق الذى حدث مع الخنافس الاوربية فى الاختبارات المعملية. الدراسات على السلالات المرتبطة بجعال ميلولونثا أيتانس والسيكلوسيفالا أظهرت مدى عوائلى محدود ومقيد مما يعضد فرضية ميلز.

سلالات باسيلليس بوبيليا المتطورة للخنفساء اليابانية والجعارين الأوربية عزلت بعد ٢٤، ١٢ سنة على التوالى بعد دخول هذه الافات الى الولايات المتحدة الامريكية ومع الجعارين الاوربية حدث ذلك الوضع بعد ٦ سنوات فقط بعد معاملة المواقع الحقلية بالسلالة التجارية من الخنفساء اليابانية. عند تلخيص نتائج الدراسات التى أجريت فى الفترة بين ١٩٧٤-١٩٨٤ لاحظ الباحثان *Chang and Wan* (١٩٨٦) أنه بعد ادخال مسحوق الجراثيم التجارى من أمريكا تم عزل أكثر من ٣٩ سلالة من *B* بوبيليا من ١٤ نوع صينى من جعارين سكربيدى فى سبعة أجناس. بالرغم من أن التخصص العوائلى يعتبر من وظائف ميكانيكيات الدفاع وتغذية العائل فان خصائص سلالات الممرض يجب أن تفهم وتستوعب جيدا قبل توضيح الوضع التقسيمى. الدراسات السيرولوجية ونظم جيل البلازميد أو دراسة نظم تبادل البلازميد وتقدير المعايير البيو كيميائية المعقدة تعوق أو تشوش بالصعوبات المرتبطة بنمو *B* بوبيليا فى الخارج *in vitro* والتجرثم. التطويرات الحديثة التى ستناقش لاحقا سوف تنشط هذه الدراسات فى المستقبل عن طريق تعضيد أو تحسين تطوير المنتج وزيادة تقديرنا للاختلافات فى التخصص العوائلى والعنفوانية بين مختلف العزلات وكذلك التتابعات البيئية المؤثرة من جراء استخدامها كمبيدات افات.

د- النمو والتجرثم فى الخارج *In vitro growth and sporulation*

يوجد على الاقل ٩٠ دراسة منشورة على النواحى المختلفة لنمو وتجرثم هذه البكتريا فى الخارج والتى تعتبر واحدة من أخطر الممرضات الحشرية. محور ومركز هذه الدراسات كان المعامل البحثية الاقليمية الشمالية التابعة لوزارة الزراعة الامريكية *Peoria USDA* (*NRRL*)*, IL*. بداية من أوائل الستينيات أدى استثمار مجهودات ما يقرب من ٥٠-٦٠ باحث على امتداد سنوات طويلة الى تطوير تكنيك النمو الخضرى المكثف لعدد قليل من عزلات باسيللس بوبيليا على بيئة صلبة أو سائلة معقدة. لقد تحقق انتاج محدود لأكياس جرثومية ناضجة *sporangia* تحتوى جراثيم وأجسام

باراجرثومية ولكن حدث ذلك فى قليل من السلالات المشتقة. أطوار النمو الخضرى فى الخارج كانت تحدث عدوى كاملة لجعارين الخنفساء اليابانية عن طريق الحقن ولكن الجراثيم كانت أقل مقدرة فى احداث العدوى بواسطة الحقن كما أظهرت فعالية أقل عن طريق الفم. فى نهاية الاربعة عشر سنة تم تحويل الميزانيات الحكومية لأولويات أخرى وحدث انحسار للدراسات فى الخارج *in vitro*.

لقد تعرضت مستحضرات الاطوار الخضرية من *B* بوبيليا فى شكل كبسولات لعدد محدود من اختبارات الفاعلية والامان. نقص مقدرة احداث العدوى لهذه التجهيزات على جعارين الخنفساء اليابانية قد ترجع الى غياب الاجسام الباراجرثومية ولكن جعارين ميلولونثا لم تظهر أية استجابات سامة عندما غذيت أو حقنت بالاجسام الباراجرثومية لسلالاتها المتطورة. ولو أن الاجسام الباراجرثومية المذابة تحدث موت عندما تحقن فى الخنافس اليابانية فان هذا ليس الطريق العادى للتعرض كما أن دور الاجسام الباراجرثومية فى عملية العدوى لبكتريا *B* بوبيليا لم يحدد بشكل قاطع بعد.

الخطوة الاولى فى عمل المزارع الخارجية للباسيلليس بوبيليا أو ممرض حشرى أخر تتمثل فى عزل الكائن من العائل المريض. حديثا شدد الباحث *Krieg* (١٩٨١) على نواحى محددة عندما حذر من أن تطابق *identity* ممرض البكتريا باسيلليس المفترض أن يتأكد على أساس مفاهيم وقواعد كوخ حيث أن مكونات أو منتجات الجراثيم الرمية *Saprophytic* قد تحدث غزو ثانوى للعائل المريض وتزييف *feign* الكائن الممرض الحقيقى. فى دراسة حديثة تعتبر أساس الجدل حول ملكية التركيب تم الاتفاق على أن عملية تجرثم *B* بوبيليا فى الخارج *in vitro* تختلف عن العملية فى الداخل *in vivo*. فى البيئة السائلة فان تجرثم السلالات المعملية المستقرة أو العزلات الحقلية الجديدة تتضمن التحلل الذاتى *autolysis* للاكياس الجرثومية الناضجة مع تحرير وانطلاق الجراثيم الحرة. هذه الجراثيم المتحررة كانت قادرة على احداث العدوى فى التقييم الحيوى عن طريق الفم مما يشير الى الاكياس الجرثومية التقليدية التى تحمل الجراثيم فى عائلها من الخنفساء اليابانية. نفس هذه الجراثيم الحرة ولو أنها معدية عن طريق الفم إلا أنها كانت غير معدية عن طريق الحقن. من الواضح الان أن الدراسات المبكرة لم تستطيع تمييز عزلات *B* بوبيليا الحقيقية عندما تجرثمت هذه العزلات مع التحلل الذاتى للاكياس الجرثومية وعندما فشل التقييم الحيوى بالحقن (أسهل عن طريق التغذية) للجراثيم الحرة- الاكياس الجرثومية لانتاج المرض اللبنى. والعزل المستقبلى لسلالات *B* بوبيليا

المفيدة من العينات المريضة سوف تسهل من خلال تطوير الطرق السيرولوجية وغيرها من طرق ووسائل التعريف والتى سوف تحل محل طرق التقييم الحيوى عن طريق التناول الفمى فى التفرقة بين كفاءة منتجات الجراثيم الرمية.

٣- بيانات الامان *Safety data*:

أ- متطلبات التسجيل للاستخدام على نجيل المراعى *Pasture grass*

عندما ووفق على القانون الفيدرالى الامريكى للمبيدات الحشرية والفطرية ومبيدات القوارض عام ١٩٤٧ استمر تسجيل مسحوق جراثيم بكتريا*B* بوبيليا تحت الفقرة أو الوثيقة "الجد *grandfather*" ولم يكن مطلوبا أية بيانات اضافية عن الامان. فى عام ١٩٦٨ قامت وكالة حماية البيئة الامريكية *US EPA* المنشأة حديثا فى ذلك الوقت بسحب تسجيل استخدام هذه المنتجات على المراعى مع تعليق تقديم البيانات الخاصة بأمان مخلفات *B* بوبيليا على نجيل المراعى الخضراء. لتحقيق المتطلبات الجديدة تم اجراء سلاسل من الدراسات للحصول على البيانات المطلوبة بواسطة فريق بحثى من وزارة الزراعة الامريكية *USDA* برئاسة د. *A.M.Heimpel* وتم تقديم البيانات من خلال المشروع البحثى الاقليمى رقم ٤ (جامعة روتجرز) الى الوكالة *EPA* كوثيقة عن المبيدات رقم *E1692*، عام ١٩٧٧. لقد طلبت الوكالة بيانات متابعة عن النواحى المختلفة للاختبارات التى قدمت نتائجها وكذلك ضرورة اجراء اختبارات المرضية فى الفئران مع المعاملة تحت الجلد *Subcutaneaus* على المنتجات التجارية الممثلة. بعد تقديم بيانات هذه الاختبارات تم تعديل البند (٤٠) من الدستور التشريعى الفيدرالى مع اضافة القسم *180.1076* والذى ينص على الاعفاء *exemption* من متطلبات السماح بوجود المخلفات *residue tolerance* للجراثيم الحية أو القابلة للحياة *Viable* للكائن الدقيق باسيلليس بوبيليا عندما استخدم كمبيد حشرى على المراعى الخضراء.

ب- البيانات الخاصة بتحليل المركب ومخلفاته

الجدول(٥ - ١) يلخص قاعدة البيانات الموجودة التى تعضد تسجيل المبيدات الحشرية الميكروبية التى تعتمد على الباسيلليس بوبيليا فى المنتجات النهائية للاستخدام فى الولايات المتحدة الامريكية والتى تم اختبارها بما فيها من تلك المنتجات التى تم تصنيعها بواسطة معاملة *Fairfax Laboratories, Clinton Corners, New York (Japidemic® and Doom®), and by thr Ringer Corporation, formerly Reuter*

و المركبات *Laboratories, Manassas, Virginia (Milky Spore and Grub Attack*") الأخرى كانت تلك التى تصنع بواسطة الحكومة.

لقد قام *Thompson and Heimpel* (١٩٧٤) باجراء سلاسل من الاختبارات الميكروبيولوجية عن عينات الانتاج للكشف عن الطرز الحيوية الخارجية بما فيها البكتريا *Coliform* و البكتريا اللاهوائية أو الهوائية (بخلاف *B* بوبيليا) أو انواع معقد الشيجيلا سالمونيلا. لم توجد بكتريا لا هوائية أو هوائية ولكن شحنه واحدة وجدت محتوية على بكتريا غير ممرضة صنفت على أنها منتجات جراثيم هوائية من نوع الايروباكنز (فى الغالب*B* سبيتيليس، *B* سيريس، *B* ميجاتيريوم) بمتوسط ٤x ١٠^{٤}/جم وكذلك بكتريا غير مكونة للجراثيم هوائية بمتوسط ٢,١x١٠^{٤}/ جم. لم يتم الكشف عن أية أعداد من معقد الشيجيلا- سالمونيلا. لقد خلص الباحثان الى أن المنتجات التجارية التى تصنع تبعا لبروتوكولات *Dutky* فى الداخل *in vivo* لا تحتوى على أية بكتريا خارجية ضارة على الانسان وأن أعداد البكتريا الملوثة كانت تتمشى بالمقارنة مع الاعداد المسموح بها فى أمريكا فى منتجات مسحوق اللبن فائقة الجودة *"Extra grade"*. حقن المنتجات التجارية تحت الجلد أو الجراثيم الناتجة فى الخارج والمتحررة من الاكياس الجرثومية بمعدل جرعات أعلى ٣-٤ مرات عن تلك المطلوبة لم تسبب أية وفيات فى فئران التجارب ولم تظهر أية أعراض مرضية عند التشريح *necropsy*. أظهرت هذه الدراسات أن بروتوكولات اختبارات الجودة الموضوعة تحقق الحصول على مستحضرات نهائية لا تحدث أية أضرار على الانسان أو الحيوانات. تحليل المخلفات أظهر وجود مستويات من جراثيم *B* بوبيليا بعد ٢٥ سنة من تكوين المستعمرات. بالرغم من نقص البيانات الاحصائية الدقيقة الا انه لم تتوفر دلائل عن أية تأثيرات ضارة على الانسان والحيوانات والبيئة. فى الحقيقة فان ارتفاع وانخفاض مستويات الجراثيم يبدو أنها ترتبط مباشرة بكثافة الاصابة بالجعال وهذا من أحد أهم ملامح الاهتمام البيئى ببكتريا باسيلليس بوبيليا.

جدول (٥- ١): ملخص بيانات الامان لبكتريا باسيلليس بوبيليا ومستحضراتها

U.S EPA Testing Requirements(EPA Guidlineno.) متطلبات الاختبارات من قبل وكالة حماية البيئة الامريكية	Test animal (number) حيوان الاختبار (العدد)	Formulation المستحضر	Dose الجرعة	Test result نتائج الاختبار	Date التاريخ
Product analysis testing					
Formation of unintentional ingredients (151-22)	*Microbia screen*	*End product*	-	*No human or animal Pathogens*	*1974*
Product batch analysis-subcuta-neos injection (40 CFR 180.1076(3))	*Mouse (3x5)* *Mouse (5)* *Mouse (5)*	*End product ATCC-53256 Pri. Powder* *ATCC-53256 Pri. powder*	$1 x 10^6$ $3.2 x 10^6$ $4.5 x 10^6$	*No effects* *No effects* *No efects*	*1981* *1988* *1988*
Residue analysis (153-4)	*Soil biossay*	*End product*	$2 x 10^6 ft^2$	*Present after 25 years*	*1967*
Tier I toxicological data					
Acute oral (152-30)	*Rat (20)* *Rat (20)* *Monkey (4)* *Monkey (4)*	*End product* *Spore* *End product* *Spore*	$5x10^7/d(x21)$ $5 x10^7/d(21)$ $2.5x10^8/d(x21)$ $2.5x10^8/d(x21)$	*No efects* *No efects* *No efects* *No efects*	*1973* *1973* *1973* *1973*
Acute dermal (152-31)	*Guinea pig(10)*	*Spore*	$1 x 10^6$	*No mortality; no irritation; no serum antibodies*	*1977*
IV. IC. IP (152-33) *Primary dermal irritaion (152-34)*	*Mouse (5x7)*	*NRRL-B2309 rods*	$2.74 x 10^8$ $4.26 x 10^9$	- *$IPLD_{50}$= $3.1x10^9$ cell*	*1971*
Primary eye irritation (152-35)	*Guidnea pig (6)*	*End product*	$5 x 10^7$	*Very slight iritation; complet revers-al in 7 d*	*1983*
Hypersensitivity incidents (152-37)	*Rabbit (10)* *Human (8)*	*Spore* *Spore and end product*	$1 x 10^6$ *Production exposure*	*No irritation* *No occupational sensitization*	*1977* *1973*
Immune response (152-38)	*Human (8)*	*Spore and end product*	*Production exposure*	*No serum*	*1973*

				antibodies detected	
Tier I nontraget data Avian oral (154- 16)	Starling (-)	Spore	$3 \times 10^{10}d$ (x1)	No effects, passed viable spores	1938
	Chicken (-)	Spore	$3 \times 10^{10}d$ (x33)	No effects, passed viable spores	1938
Avian injection (154- 17)	Chicken (-)	Spore	1.1×10^9	No effects	1938
Non- target plant (154- 22)	Pastures	End product	$2.06 \times 10^9 fr$	No negative effects on turf	1975
Non- target insect (154- 23)	Tiphia Neodiprion Musca Galleria Bombyx	Milky host Spore Spore Spore and rods Spore	------	No infection on injection	1967

جـ- البيانات التوكسسيكولوجية من المرتبة أو البطارية الاولى *Tier I*

الجدول (٥- ١) موجود فى صورة تمثل البيانات الرئيسية المحورة التى ترتبط ببيانات الاختبارات الموجودة مع ما هو متوافق مع متطلبات التسجيل فى وكالة حماية البيئة الامريكية. الاختبارات التى أجريت قبل عام ١٩٨١ ربما لا تتبع البروتوكولات الموضحة فى دليل الوكالة *EPA* من حيث الاعداد ولكن فى العديد من الحالات فأن هذه الاختبارات المطلوبة تتبع بروتوكولات أكثر صرامة عن تلك الجارية. كمثـال فـان البيانات عن السمية عن طريق الفم تتأتى من دراسات الانبوب المعدى لمدة ٢١ يـوم على الجرذان والقرود باستخدام المنتج النهائى التجارى وتجهيزات الجراثيم فى الداخل من شرائح الهيموليف. حيوانات التجارب تتكون من أعداد متساوية من كلا الجنسين مع ملاحظة الموت والتغيرات فى السلوك المرتبطة بالمعاملة والتأثيرات علـى المعـايير الطبيعية والسريرية والسيرولوجية خلال فترة الاختبار والشـفاء *recovery periods*. لقد تم قتل نصف الحيوانات المختبرة بعد ٢١ يوم من بداية الاختبار وتم قتـل بـاقى الحيوانات بعد ٧ أيام من القتل الاول وبعد الموت تم فحص الانسجة الكبرى فى الجهاز الدورى والتنفسى والهضمى وأجهزة الاعضاء الغدية للوقوف على أية تغييرات نسيجية مرضية. فى كلا الجرذان والقرود لم تسجل أية اختلافات فى السلوك أو فـى مظهـر حيوانات الاختبار والمقارنة خلال أو بعد ٢١ يوم من المعاملة. لم تسـجل كـذلك أيـة وفيات أو علامات العـدوى ونفـس الشـيء مـع المعـايير الطبيعيـة والسـريرية

والسيرولوجية. عينات السيرم التى أختبرت فى معمل اخر لم تظهر أية علامات عن انتاج أجسام مضادة لمواد الاختبار. لم تكن هناك أية تغييرات شاملة فى أى من أعضاء الجسم عند التشريح ولم يمكن الربط بين أية تاثيرات مؤكدة مع الزيادة النسبية فى وزن طحال ذكور القرود التى عوملت بالمنتج النهائى أو الزيادة المطلقة فى وزن الحوصلة المنوية والزيادة النسبية فى وزن الغدد فى الاناث من القرود المعاملة بالجراثيم. على نفس المنوال لم تسجل أنه قد حدثت تأثيرات كبيرة من جراء الخفض بمقدار ٢٩%فى الوزن المطلق للغدة الدرقية عند قتل الذكور بعد ٣ أسابيع من المعاملة بالمركب النهائى أو خفض مقداره ٢٤% بعد أربعة أسابيع من المعاملة فى الحيوانات التى تم قتلهاللفحص. لم تلاحظ أية تغيرات نسيجية مرضية فى الانسجة التسعة التى أخذت من كل الحيوانات مما دعى الباحث للقول والاستنتاج بعدم ملاحظة أية اختلافات مؤثرة بين مجاميع الحيوانات المعاملة وتلك الخاصة بالمقارنة خلال فترة الدراسة.

البروتوكولات الخاصة بالدراسات التى أجريت لتقدير السمية الحادة عن طريق الجلد والالتهابات الاوليةعلى الجلد والعيون (بدون غسيل) تتبع بشكل كبير دلائل وكالة حماية البيئة الامريكية *EPA*. معلق الجراثيم فى الخارج فى الماء المقطر لم تسبب أية وفيات ولا التهابات جلدية ولم تحفز تكوين أجسام مضادة فى السيرم عند معدل $١٠x١^{٦}$ جراثيم على موقعين بدون نزع الشعر على ظهور عشرة حيوانات خنازير غينيا. استخدم ٠,٥ جم من المنتج النهائى (يحتوى على $١٠x٥^{٧}$جراثيم *B* بوبيليا) المرطبة بمقدار ٠,٥ ملليلتر ٠,٩%محول ملحى عوملت كذلك على كل حيوان وعلى كل من الموقعين منزوعى الشعر واخرين غير منزوعى الشعر على ظهور ستة خنازير غينيا وتم تغطيتها لمدة ٢٤ ساعة ثم مسحت للتخلص من مادة الاختبار. لقد ظهرت على الحيوانات علامات الحمامى *erythema* واضحة مع أوديما قليلة جدا *edema* بعد ٢٤ ساعة مع قليل جدا من الالتهابات بعد ٧٢ ساعة. لقد وصل دليل الالتهابات الاولى ١,٦ على مقياس *Draize scale* وكانت جميع الحيوانات خالية من الالتهابات خلال ٤-٦ أيام بعد استخدام مادة الاختبار. لم تسجل أية أعراض خاصة بالتهابات العيون بين الارانب بعد ٢٤، ٤٨، ٧٢ ساعة أو بعد ٧، ١٤ يوم بعد المعاملة بتركيزات$١٠x١^{٦}$ جراثيم من شرائح الهيموليف فى٠,١ ملليلتر ماء مقطر. لذلك لم تعتبر *B* بوبيليا محدثة لأية التهابات فى الاعين.

لقد أجرى الباحثان *Heimpel and Hurbant* (١٩٧٣) الفحص السريرى والطبى والسيرولوجى لثمانية مستخدمين فى معامل فير فاكس الحيوية العاملين طول

الوقت أو جزء من الوقت بمجموع ٧٥ سنة فى عملية التصنيع فى الداخل لمنتج *B* بوبيليا. كل الافراد (خمسة نساء وثلاثة رجال) تم حصولهم على فحص طبيعى روتينى وتعرضهم لأشعة *X* على الصدر وكذلك اختبارات الدم السريرية وتحليل البول وقد أجريت هذه الفحوصات والتحاليل فى ثلاثة مناسبات خلال موسم انتاج الربيع (من مايو وحتى يوليو). كذلك أخذت ثلاثة عينات من السيرم من المتطوعين وأختبرت للكشف عن انتاج الجسم المضاد بواسطة اختبارات التجمع *agglutination* والترسيب *Precipitating* وكذلك انتشار الاجار ضد (١) الانتيجينات المجهزة من الاطوار الخضرية لبكتريا *B* بوبيليا من السلالات المعملية *NRRL.B-2309*، *NRRL B.2309S*، *NRRL B-2309L*، *Nrrl B-332qf* و(٢) الانتيجينات المجهزة من هيموليمف الخنفساء اليابانية التى جمعت من الحقل و(٣) الانتيجينات من هيموليف جعارين الخنفساء اليابانية التى حقنت وحضدت *bled* فى المعمل بينما تم سحب عينات السيرم. لقد اتضح أن سيرم الانسان الذى تم فحصه لم يكن محتوى على أجسام مضادة *antibodies* لأى من تجهيزات الانتيجين الثلاثة ولم تكن أى من الفحوصات الطبية الطبيعية أو السريرية غير عادية مع عوامل العمر والجنس لكل متطوع. لقد خلص البحاث الى عدم وجود دليل عن مرضية مرتبطة بالتعرض المهنى لبكتريا *B* بوبيليا كما أن التعرض المستمر لم يحفز انتاج الجسم المضاد فى الانسان.

لقد أجريت دراسة معملية عن المقدرة المرضية للاطوار الخضرية لبكتريا *B* بوبيليا على الثدييات مع ١٤ ساعة المرحلة اللوغاريتمية للسلالة *NRRL B-2309* وكذلك السلالة المعملية غيرالمرضية لباسيلليس سبتليس بواسطة *Walsh and McMahon* (١٩٧١). لقد تم حصاد العصيان بواسطة الطرد المركزى ثم غسلت فى محلول ٠,١ تريبتون لازالة المخلفات خارجية الخلايا ثم يعاد تعليقها فى التريبيتون ثم خففت فى سلاسل للحقن. ثم تم التحليل لعد الخلايا الحية بواسطة طريقة الاطباق. ثم حقن تخفيفات العصيان فى الغشاء البريتونى (٠,٥ ملليلتر) ثم حقنت تحت الجلد (٠,٢٥ ملليلتر) فى مجاميع من سبعة فئران. لقد حدثت وفيات فى الارانب التى عوملت بالعصيان الحية بجرعات ٢,٥٢x١٠^{٩} وأعلى (*LD50*=٣,١x١٠^{٩}). لقد ماتت الفئران خلال ٢٤-٤٨ساعة من الحقن من كلا السلاسل التجريبية. الحقن البريتونى بجرعة ٢x١٠^{١٠} عصيان قتلت بالحرارة لم تحدث أية وفيات كما أن الفئران التى حقنت تحت الجلد بتركيز ١x١٠^{١٠} باسيلليس بويليا لم تموت ولكنها أظهرت نكرزة موضعية فى النسيج. النقد فى هذا العمل من أن *B* بوبيليا كانت معزولة من هذه المواضع المنكرزة

بعد ٥-٧ ايام من الحقن لا يمكن أن تفسر بل هى الملاحظة الوحيدة التى سجلت. الجرعات العالية عن طريق العدوى لا تحدث فى الطبيعة ولم يشار الى أية خطورة منها على الانسان والحيوانات.

د- البيانات الخاصة بالكائنات غير المستهدفة فى اختبارات البطارية I

جعارين الخنفساء اليابانية مع أو بدون العدوى ببكترياباسيلليس بوبيليا يشيع أكلها بواسطة الطيور مثل الزرزور والراخ ومن ثم يكون من المناسب اجراء أول اختبارات لامان هذه المستحضرات على هذه الانواع من الطيور. لقد أجريت اختبارات على الزرزور للوقوف على التأثيرات السامة عن طريق الفم مع جرعة فردية من الجراثيم ٣x١٠^١٠ وهى تعادل استهلاك ١٠-١٥جعران مريض بالمرض اللبنى من العمر الثالث. لا توجد أدلة تشير الى أن جراثيم *B* بوبيليا تنبت فى القناه الهضمية للزرزور أو تظل ثابتة فى براز هذه الطيور. لقد تم تغذية الفراخ بنفس العدد من الجراثيم مع كل يوم من الايام الثلاثة والثلاثين المتوالية أو الحقن بجرعات من الجراثيم ٥x١٠^٩ لكل كجم من وزن الجسم ولم تظهر أى دلائل على حدوث انبات لهذه الجراثيم كما لم تحدث أية تأثيرات سالبة على الفراخ.

لقد تحصل الباحث *Ladd* (١٩٧٥) على بيانات محددة عن الامان على النباتات من نجيل المراعى المعامل بمنتج *B* بوبيليا التجارى بمعدل٢٠٠٠ رطل/أكر (٢٠٠مرة مثل المعدل الموصى به) حيث أشار الباحث الى عدم ملاحظة أية تأثيرات سالبة على نمو نجيل المراعى فى الاماكن المعاملة التى عوملت بجراثيم تركيز٢x١٠^٩ لكل قدم مربع. لم تكن هذه الملاحظات مثيرة للاستغراب حيث أن جعران واحد معدل ببكتريا المرض اللبنى قد تحتوى على عدوى من الاكياس الجرثومية الناضجة عند موت هذه الحشرة. أظهرت كثير من الدراسات الاخرى على الاحياء غير المستهدفة نقص المعلوماتية الخاصة ببكتريا *B* بوبيليا من بين العديد من أنواع الافات الحشرية غير الجعال والانواع النافعة (جدول ٥- ١).

هـ- البيانات المطلوبة فى برنامج التسجيل فى وكالة حماية البيئة الامريكية

لقد بدأ برنامج التسجيل فى وكالة حماية البيئة الامريكية *EPA* عام ١٩٩٠ حيث تم مراجعة موقف تسجيل المبيدات للوقوف على مدى دقة البيانات التى تعضد التسجيل وتعريف نقاط الضعف *data gaps* وطالبت كل من حصلوا على تسجيلات للمبيدات أن يستكملوا ويقدموا البيانات غير المستوفاة أو غير الدقيقة. لقد حدث نفس

التوجه مع بكتريا باسيلليس بوبيليا من قبل وكالة *EPA* حيث طلبت بيانات اضافية عن الكائنات غير المستهدفة بما فيها أسماك المياه العذبة (الــدليل *154-19*) ولا فقاريـــات المياه العذبة *(154- 20)* والنباتات غير المستهدفة *(154- 22)* ودراسات على الحشرات غير المستهدفة *(154- 23)* واختبارات على نحل العسل *(154- 24)*

خلاصة القول أنه مع المنتجات فى المستقبل المبنية على باسيلليس بوبيليا النامية فـــى الخارج قد تحتوى على سلالات أكثر عنفا تستطيع أن تقتل الجعارين المستهدفة أسرع ولكنها تنتج عدد أقل من الجراثيم فى العوائل المصابة. مـــع افتــراض عـــدم وجـــود اختلافات فى بيانات الامان وثيقة الصلة فان هناك حاجة لتقدير هذه البيانات سنة بعـــد أخرى لصيانة استمرارية المكافحة الفعالة للجعارين. الاختبار بـــين نـــوع المنــتج أو المركبات التجارية السائدة تحتوى السلالات الاقل عنفوانية والاقل انتاجيـــة للجـــراثيم وهذه سوف تبنى على التكلفة والجدوى الاقتصادية.

REFERENCES

Aizawa. K., Mushi. 39, 97, 1967. (as cited in Reference 17)

Change. S. and Wan, Y., Studies on milky disease bacteria in China. Sinozoologia. 10, 219, 1986.

Dutky. S. R., The milky diseases, in Insect Pathoogy: Art advanced Treatise, Vol. 2. Steinhaus. E. A., Ed., Academic Press, New York. 1963. 75.

Heimpel, A. M. and Hrubant, G. G., Medical examinaion of humans exposed to Bacillus popilliae and popilliae japonica during production of commercial milky disease spore dust, Environ. Enomol., 2, 793, 1973.

Krieg. A., The genus Bacillus: insect pathogens, in The Prokaryotes: A Handbook on Habitats, Isolation and Identifiation of Bacteria, Vol. 2, Sterr, M. P.. et al., Eds., Springer- Verlag, New York, 1981. chap. 136.

Ladd. T. L., Jr. and McCabe, P. J., Prestistence of spores of Bacillus popilliae, the causal organism of type A milky disease of Japanese bettle larvae, J. Econ. Entomol., 60, 493, 1967.

Ladd, T. L., Jr., U. S. Environmental Protection Agency Pesticide Petition No. 6E1692, personal communiaions, 1975.

Milner, R. J., A new variety of milky disease, Bacillus popilliae Var. rhopaea, from Rhopaea verreauxi, Aust. J. Biol. Sci., 27, 235, 1974.

Milner, R. J., Idenification of the Bacillus popilliae group of insect patgogens, in Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980, Burges, H. D., Ed., Acdemic Press, London. 1981, 45.

Obenchain, F. D., unpublished information. 1988.

Reagan, E. L., Acute subcutaneous injection study of Bacillus popilliae spore preparation, RLI-88F1-FIP in CD-1 mice, Food and Drug Research Laboratories, Waverlym NY, 1988.

Reno, F. E., Acute eye irritation potential study in rabbits, supplemen to U. S. Environmental Protection Agency Pesticide Petition No. 6E1692, Hazelton Laboratory of America Inc., Vienna, VA. 1977.

Rone, F. E., Acute dermal toxicity in guinea pigs; Bacillus popilliae, in spore form, final report, supplement to U. S. Environmental Protection Agency Pesticide Petition No. 6E1692, Hazelton Laboratory of America Inc., Vienna, VA. 1977.

Thompson, J. V. and Heimpel, A. M., Microbiological examinaion of the Bacillus popilliae product calles Doom, Environ. Entomol., 3, 182, 1974.

Vos, B. J.,Safety evaluation by repeated oral administration of Bacillus popilliae to rats and monkeys, U. S. Enviromental Protection Agency . Pesticide Petiion No. 6E1692, Woodward Research Corp., Herndon, VA, 1973.

Welsh, R. D. and McMahon, K. J., Pathogenicity of vegetative cells of Bacillus popilliae for mice, Trans. Kans. Acad. Sci., 72, 509, 1971.

White, R. T., Effect of milky disease on Tiphia Parasites of Japanese beetle larvae, J. N. Y. Entomol. SOC., 51, 213, 1943.

Wolfe, G. W. and Mense, M. A., Pathogeniciy test in mice; Bacillus popilliae, final report, Hazelton Laboratory of America Inc., Vienna, VA, 1981.

الفصل الثاني

أمان وسائل المكافحة الحيوية الفطرية والنيماتودية على اللافقاريات غير المستهدفة الهامة اقتصاديا كافات

أولا: أمان وسائل المكافحة الحيوية الفطرية:

الحشرات والاكاروسات والنيماتودا وغيرها من اللافقاريات وكذلك النباتات حساسة للامراض الفطرية. الكثير من البحوث السابقة تناولت وركزت على حماية الكائنات النافعة مثل النباتات الزراعية والحشرات من الفطريات المرضية. حديثا تحول الاهتمام فى اتجاه استخدام هذه الفطريات كوسائل مكافحة للحشائش والحشرات الضارة وغيرها من اللافقاريات. فى الوقت الراهن تستخدم بعض الفطريات فى مكافحة الحشائش والنيماتودا والاكاروسات والحشرات فى أجزاء مختلفة من العالم. الكثير من هذه الفطريات ما زالت تحت التطور والبعض الاخر على وشك الحصول على التسجيل الرسمى من قبل الحكومات المعنية حتى يمكن استخدامه فى التطبيق الحقلى.

يوجد ما يزيد عن ٧٠٠ نوع من الفطريات الممرضة للحشرات تم وصفها وتقسيمها فى حوالى ١٠٠ جنس. غالبية الدراسات المرجعية عن مرضية هذه الفطريات نشرت بواسطة Madelin (١٩٦٣، ١٩٦٦)، Muller-Kogler (١٩٦٥)، Roberts and Humber (١٩٨١)، Steinhaus (١٩٤٩). الدراسات المرجعية عن استخدام هذه الفطريات فى مكافحة الحشرات والاكاروسات نشرت بواسطة Ferron (١٩٧٨، ١٩٨٥)، Hall and papierok (١٩٨٢)، Robert (١٩٧٣) وغيرهم كثيرون.

فى هذا المقام سوف نتناول الامان النسبى للافقاريات للوسائل الفطرية المسجلة فى الوقت الراهن لمكافحة الحشرات والاكاروسات ولن نتناول الفطريات المتخصصة على مفصليات الارجل النافعة وغير المستهدفة وكذلك التوكسينات الفطرية والفطريات المهندسة وراثيا. المرجع الوحيد الذى تناول بشكل خاص أمان الفطريات على اللافقاريات هو القسم الخاص فى كتاب Muller- Kogler الذى نشر منذ ما يزيد عن ٣٠ عاما مضت (١٩٦٥). هناك دراسات مرجعية عامة عن وسائل المكافحة الميكروبية على اللافقاريات نذكر منها Flexner وأخرون (١٩٨٦)، Bailey (١٩٧١)، Cameron (١٩٦٧)، Chapman وأخرون (١٩٧٩)، Englar and Arats (١٩٧٧)،

Pimentel (١٩٨٠، ١٩٨٤) وغيرهم وقد تناولت هذه الدراسات خطورة ومخاطر الممرضات الحشرية على البيئة. لقد نشر الباحث Hall وأخرون (١٩٨٢) دلائل عن تسجيل الفطريات الممرضة للحشرات.

وضع الفطريات الممرضة للحشرات المسجلة: فى الوقت الراهن توجد أربعة أنواع من الفطريات مسجلة للاستخدام كوسائل حيوية لمكافحة الحشرات (جدول ٥- ٢) ولكن اثنان فقط يستخدما على نطاق واسع. بالاضافة الى ذلك فانه ولو أن *Paecilomyces lilacinus* تستخدم فعليا وهى مسجلة واقعيا فى مكافحة النيماتودا فانها تعتبر ذات دور فعال فى مكافحة الحشرات فى حقول الارز. فى جمهورية الصين الشعبية عومل ما يقرب من ٧x١٠^٥ هكتار بفطر *Beauveria bassiana* عام ١٩٧٩ لمكافحة ديدان أشجار الصنوبر (أنواع دينرولميس) وحوالى ١x١٠^٥ هكتار من قصب السكر عام ١٩٧٦ لمكافحة ثاقبات الذرة (أو سترينيا فيرناكاليس). فى البرازيل تعامل مساحة ١x١٠^٥ هكتار تقريبا من قصب السكر بالفطر *Metarhizium anisopliae* لمكافحة بق الباصوق Spittle bugs.

هذه المنتجات أمنه بوجه عام ولقد تمت الاشارة الى أمانها على اللافقاريات غير المستهدفة بالتفصيل فى مواضع كثيرة. لقد قام Flexner وأخرون (١٩٨٦) باستعراض بعض الاختبارات على *B.bassiana* فى المستحضر المعروف Boverin ضد الحشرات غير المستهدفة. لقد كانت الوفيات متوسطة أو عالية فقط فى حالة تناول الحشرات النافعة للفطريات وليس عندما تلامسها. مع المدى العوائلى العريض المعروف للفطريات مثل بوفاريا باسيانا و *M.anisopliae* فان هناك احتمال كبير لاحداث العدوى أو التأثيرات السامة Toxicosis على اللافقاريات غير المستهدفة. ينصح باجراء استكشاف مستمر بعد التطبيقات الحقلية الكبيرة لهذه المنتجات الحيوية.

جدول (٥- ٢) الفطريات الممرضة للحشرات المسجلة

Pathtogen الممرض	Trade name الاسم التجارى	Target species الانواع المستهدفة	Country البلد	Ref. المرجع
Beauveria bassiana	Boverin None	Leptinotarsa decemlineata. Cydia pomenella Dendrolimus punctatus. D. tabulaeformis. Ostrinia furnacalis. Neophotettix spp.	U.S.S.R China	58 94
Hirsutella thompsonii Metarhizium anisopliae	Mycar® Biocontrol®, Biomax® Combio®, Metabiol®, Metapol®, Metaquino®,	Phyllocoptuta oleivora Spittle bugs	U.S Brazil	138 178.202
Paecilomyces lilacinus Verticillium lecanii	Biocon® Vertalac® Mycotal® Thriptal®	Nematodes Aphids Whiteflies Thrips	Philippines U.K.	102 80

المدى العوائلى والتخصصية: الفطريات الامنه "Safe" fungus على اللافقاريات هى بالضرورة ذات مدى عوائلى محدود وهذه الخاصية تجعل لها أقل تأثير على الكائنات غير المستهدفة (NTO's) هذا قد لا يكون الوضع المناسب فى حال النظر لاستخدام هذه الفطريات كوسيلة مكافحة حيوية. الكائنات غير المستهدفة قد ينظر اليها كعوائل ثانوية حيث تصان فيها العدوى وتتطور وتتضاعف ومن ثم تشجع وتنشط العدوى الاخيرة فى مجاميع العائل المستهدف.

الفطريات من أكثر الكائنات ذات المدى العوائلى العريض من بين ممرضات الحشرات. على سبيل المثال فان قائمة عوائل البوفاريا باسيانا تشمل ما يزيد عن ٧٠٠ نوع. القوائم الخاصة باللافقاريات غير المستهدفة وتلك التى وجدت غير حساسة لبعض الممرضات الحشرية من الفطريات الشائعة موجودة فى جدول (٥- ٣) وسوف أضعها بالانجليزية لأنها واضحة جدا ومجرد أسماء (ترددت كثيرا هل أضع كل القوائم أم أختار منها كنماذج وفى النهاية فضلت أن أضعها جميعا مجزأة حتى يستفيد القارئ والباحث من هذه القوائم وعلى الله قصد السبيل). أية استنتاجات عن المدى العوائلى والتخصص العوائلى لعزلات الفطريات الممرضة للحشرات بناء على قوائم العوائل

الموجودة فى الجدول يجب أن تؤخذ بحذر. العديد من التسجيلات فى هذه القوائم مبنية على عينة فردية.

جدول (٥- ٣) المدى والتخصص العوائلى لبعض :ممرضات الطرية على اللافقاريات

Fungus/ target hosts الفطر/ العوائل المستهدفة	Nontarget hosts العوائل غير المستهدفة	Challenged and not infected العوائل التي لا تصاب وتقاوم العدوى
Chytridiomycetes		
Coelomomyces spp./ Diptera:Culicidae(h)	Ostracoda	Oligochaeta: Naididae Branchiopoda (Daphnia carinaia) Ostracoda
	Copepoda(h) Diptera: Culicidae (Toxorhynchites rutilus ssp. Septentrionalis(r)	Malacostraca: Amphipoda (Orchestia aff. Tennis). Isopoda (Notidotea lacustris)[2] Diptera:Chironomidae (Chironomus zealandicus)
Oomycetes Lagentdium giganteum		
Diptera:Culicidae(h)	Branchiopoda: Cladocera (Daphnia sp (u))	Polychaeta[1]
	Copepoda(u) Diptera: Chaoboridae (Chaoborus astictopus(m)[1]	Gastropoda Branchiopoda: Cladocera[1] (Daphnia pulex) Osteracoda: Podocopa Copepoda: Cyclopoida (Cyclops sp.) Malacostraca:Amphipoda (Gammarus Lacustris). Decapoda (Cambarus sp. Procambarus clarkii. Palaemonetes pugio) Odonata:Aecshnidae (Aecshna sp.). Calopterygidae (Ischnura sp.). Libellulidae (Libellula sp.) Ephemeroptera:Baetidae (Callibaetes sp.. C.montanus) Heteroptera:Belostomatidae (Belostoma fluminae). Corixidae (Corisella sp.). Coenagrionidae (Ishnura cervula[1]). Notonectidae (Notonecta unifasciata) Diptera:Chaoboridae (Chaobodrus flavicans). Chironomidae Ephydridae. [60] Syrphidae Coleoptera:Hydrophilidae (Enochrus cuspidatus Hydrophilus triangularis.[10] Tropisternus lateralis). Dytiscidae[1](Hygrotus sp.. [10] H. medialis. Laccophilus decipiens. Theronectus basilarus). Coccinellidae (Hippodamia convergents) Hymenoptera:Apidae (Apis mellifera[1])

تابع جدول (٥- ٣) المدى والتخصص العوائلى لبعض الممرضات الطرية على اللافقاريات

Leptolegnia chapmaniil Diptera:Culicidae(h)[142]	None reported	Branchiopoda:Cladocera (Daphnia sp.) Odonata: Aecshnidae. Libelldae. Gomphidae Plecoptera:Nemouridae. Peltoperlidae (Peltoperla sp.). Perlidae. Perlodidae Diptera:Simuliidae (Simulim spp.) Chironomidae. Tipulidae (Dicranota sp.. Tipula sp.) Coleoptera:Dytiscidae. Halipidae. Noteridae Trichoptera:Hydropsychiidae. Limnephilidae. Rhyacophilidae[1]
Zygomycetes Conidiobolus coronatus and C. thromboides1 Symphyla(h)[73] Acari(r)[191] Isoptera(r)[105]	Hymenoptera:Formicidae (Mesoponera sp.[155])	Diptera:Syrphidae Coleoptera:Coccinellidae Hemiptera:Anthocoridae Neuroptera:Chrysopidae (Chrysopa spp.) Hymenotera
Homoptera:Aphididae(h)[79] Entomophaga maimaigal Lepidoptera(r-h)[203]	None reported	Orthoptera: Acrididae (Camnula Pellucida) Chrysomelidae (Diabrotica undecimpunctata) Lepidoptera:Geometridae. Noctuidae (Calpe canadensis. Heliothis virescens. Spodoptera eridania). Lasiocampidae Malacosoma disstria). Saturniidae (Hemileuca maia). Lymantriidae (Dasychira vagans). Pyralidae (Polidae interpunctella). Pieridae (Pieris rapae) Hymenoptera:Apidae (Apis mellifera[22])
Entomophthora muscael Heteroptera(r) Diptera(1-h)	Diptera:Empididae (Empis tessellata. Rhamphomyia stigmosa(r). Muscidae (Coenosia muscae(r). Sarcophagidae (Acridiophaga aculeata(u). Kellymyia Kellyi(h). Pseudosarcophaga affinis(m). Syriphidae(1) (Eupeodes sp.(r). Melanostoma scalare.	Diptera:Calliphoridae (Phormia regina. Calliphora vicina). Syrphidae (Allograpta obliqua. Eristalis arbustorum. E. tenax. Toxomerus. Sphaerophoria scrita. Syrphus sp.) Tephriidae (Rhagoletis pomonella)[211]

تابع جدول (٥- ٣) المدى والتخصص العوائلي لبعض الممرضات الطرية على اللافقاريات

	Platychirus spp.(r). Scopeuma stercorarium(r). Syrphus Spp.(r). Tachinidae (Dexilla vacua(r) Tachina sp. Coleoptera:Cantharis (Cantharis livida(r)) Hymenoptera:Torymidae (Torymus druparum(r))	
Erynia delphacisl Homoptera(h) Heteroptera:Miridae(u)	Hemioptera:Miridae (Cyrtorrhinus lividipennis(u)	None reported
Erynia pierisl Lepidoptera(1-h) Homoptera(m) Diptera(1)	None reported	Homoptera:Aphididae (Aphis fabaem Brevicoryne brassicae)[1] Coleoptera:Chrysomelidae (Lepinotarsa decemlineata). Coccinellidae (Epilachna varivestis). Tenebrionidae (Tribolium confusum) Lepidoptera:Lymantriidae (Lymantria dispar). Pyralidae (Galleria mellonella. Ostrinia nubilalis. Plodia. interpunctella)
	Platychirus spp.(r). Scopeuma stercorarium(r). Syrphus Spp.(r). Tachinidae (Dexilla vacua(r) Tachina sp. Coleoptera:Cantharis (Cantharis livida(r)) Hymenoptera:Torymidae (Torymus druparum(r))	
Erynia delphacisl Homoptera(h) Heteroptera:Miridae(u)	Hemioptera:Miridae (Cyrtorrhinus lividipennis(u)	None reported
Erynia pierisl Lepidoptera(1-h) Homoptera(m) Diptera(1)	None reported	Homoptera:Aphididae (Aphis fabaem Brevicoryne brassicae)[1] Coleoptera:Chrysomelidae (Lepinotarsa decemlineata). Coccinellidae (Epilachna varivestis). Tenebrionidae (Tribolium confusum) Lepidoptera:Lymantriidae (Lymantria dispar). Pyralidae (Galleria mellonella. Ostrinia nubilalis. Plodia. interpunctella)

تابع جدول (٥- ٣) المدى والتخصص العوائلى لبعض الممرضات الطرية على اللافقاريات

Erynia radicansl Homoptera(r-h) Heteroptera(r) Diptera(r) Coleoptera(u) Hymenoptera(h) Lepidoptera(h)	Diptera:Syrphidae(r) ColeopteraLLampyridae Hymenoptera:Aphidiidae(u). Braconidae(u) Chalcidiae(u). Ichneumonidae(u). (Bathyplectes tristis(u). Cratichneumon laniusm Lissonata sp (r) Pteromalidae (Pteromalus sp.(r)	Homoptera: Aphididae (Acyrthosiphon pisum. Aphis craccivora). Cicadellidae (Macrosteles fascifrons[1]) Coleoptera:Coccinellidae (Coleomegilla maculata Eriopis connexa[1]) Hymonoptera:Aphidiidae (Trioxys complanatus[1]) Ichneumonidae (Angiia sp.) Lipedoptera:Lymantriidae (Lymantria dispar). Pyralidae (Galleria mellonella). Noctuidae (Trichoplusiani. Spodoptera exigua. Spodoptera littoralis)
Neozygies acaridisal Acari(u)	Acari: Macrochelidae (Macrochelus peregrinus(h)) Gamasidae. (Pergamasus crassipes(r))	None report
Hyphomycetes Beauveria bassianal Gastropoda(u) Acari(h) Orthoptera(h) Dermaoptera(r) Isoptera(u) Blattaria(h) Thysanoptera(r)	Acari:Phyoseiidae (Metaseiulius occidentalis(l)[5]). Araneae(r) Diplopoda:Polydesmida (Polydesmus sp.(r)) Embioptera Teratembiidae (Micrutalis dorsalis(u)) Dermaptera:Forficulidae (Forficula auricilaria(r)) Mantodae:Manidae (Mantis relgiosa(r). Tenodera capitata)	Diptera: Phoridae (Megaselia rufipes[147]). Syrphidae. Tachinidae (Compsilura concinnata. Metagonistylum paratheresia) Hymenoptera: Braconidae (Apanteles congregatus). Formicidae (Pheidole megacephala[30]). Trichogrammatidae (Trichograma cacoeciae, T. embryophagum. T. evanescens. T. Pallidum) Neuroptera:Chrysopidae (Chrysoperla carnea)
Homoptera(h) Heteroptera(r) Diptera(h) Coleoptera(h) Hymenoptera(u) Siphonaptera(h) Lepidoptera(h)	Heteroptera:Nabidae (Nabis spp.(r)). Pentatomidae (Perillus bioculatus(l). Veliidae (Mesovelia mulsnti(r)) Diptera: Bibionidae (Bibio marci(r). Bombyliidae (Villa brunea(u)). Cecidomyiidae (Aphidoletes thompsonii(u)). Chamaemyiidae (Gremifania nigrocellulata(u). Leucopis spp.(u). Dolichopodidae (Medetera sp.(u)). Syrphidae (Eristalis latifrons(r)). Tachinidae(r) (Exorista sorbillans(r). Lixophaga diatraeae(h) Tipulidae(r) Coleoptera: Carabidae (Broscuscephalotes(l). Carabus(u). Harpalus pubescens(l). Lebia bivittata(r). Pterostichus cupreus(l)). Chrysomelidae (Chrysolina hyperici(r)). Cleridae (Enocleus sphegeus(u). Coccinellidae (Adalia bipunctata(l). Adona notata(l). Anatis ocellata. Clavia quttuodecimgutt.:ta(r). Chilochorus bipustulatus(u). Coccinella spp.. Coleomegilla maculata(h). Crypolaemus montrouzieri(m). Epilachna spp.(r). Eriopisconnexa(h). Exochomus quadripustulatus(u). Harmonia punctata(l). Hippodamia spp.(u). Rodalia	

تابع جدول (٥- ٣) المدى والتخصص العوائلى لبعض الممرضات الطرية على اللافقاريات		
	cardinalis(r). Scymnus spp (u). Semiadalia unidecimnotata(l)). Colydiidae (Dastarcus longulus(r)). Derodontidae (Laricobius erichsonii(u)). Hydrophilidae (Tropisternus sp.(r)). Nitidulidae (Gischrochilus quadrasignatus(r)). Rhizophagidae (Rhizophagus grandis(h)). Salpingidae (Pytho americanus(u)). Silphidae sp (r)). Staphilinidae (Lathrobium brunnipes(r)). Tenebrionidae (Corticeus sp (u)) Hymenoptera Aphelinidae (Encarsia formosa(l)). Apoidae(r). Apidae (Apis mellifera(m). Bombus pratorum(r). B. terrestris(h)). Braconidae (Chelonus annulipes(r). Coeloides rufovariegatus(u). Cotesia glomeratus(l). Cotesia glomeratus(l). Microbracon sp.(r)). Formicidae	
	(Formica spp.(r). Lasius spp.(r)). Ichneumonidae Coelichneumon rudis. Erigorgus femoraor(r). Vespida (Vespa spp. (r). Vesperus sp.(r). Vespula spp.(r). Neuroptera:Chrysopida e (Chrysoperal spp.(u). (l-m) Lepidoptera:Arctiidae (Hypocrita jacobaeae(r)). Bombycidae (Bombyx mori(h)). Pyralidae (Cactoblastis cactorum(r).	
Culicinomyces calvisporusl Diptera:Culicidae(h). Ceratopogonidae(h). Simuliidae(l-h)	Diptera:Culicidae (Aedes alternans(h). Chaoboridae (Choaborus sp.(l)). Chironomidae (Chironomus sp.(h)). Dixidae. Syrphidae (Eristalis aeneus(h). E. maculatus(h)). Ephydridae (Brachdeutra argentata(h)[11])	Gastropoda:Basommatophora (Physa sp) Malacostraca:Decapoda. Atyidae Odonata:Anisoptera, Zygoptera[214] Heteroptera:Belostomatidae (Diplonychus rusticus). Corixidae. 35 Nepidae. [114] Notonecidae[11] (Anisops sp) Diptera:Psychodidae (Psychoda sp..[11] Telmatoscopus albipunctatus[24]). Ptychopteridae (Bittacomomorph clavipes[11]). Simuliidae (Simulium vittatum). Tipulidae.[21] Stratiomydae (Stratiomyia sp.[11]). Tabanidae (Chrysops sp., Tabonus sp.). Syrphidae[21] Coleoptera:Dytiscidae[114] (Necterosoma sp.). Hydrophilidae. Haliplidae[114] Trichoptera Hymenoptera:apidae (Apis mellifera[34])
Hirsutella thompsoniil Acari(h) Coleoptera(m)	Acari:Phytosiidae (Typhlodromalus peregrinus(u))	Diptera:Culicidae (Aedes aegypti. Anopheles stephensi, Culex pipiens Coleoptera:Cocinellidae (Coccidophilus citricola, Lindorus lophanthae)

تابع جدول (٥- ٣) المدى والتخصص العوائلي لبعض الممرضات الطرية على اللافقاريات

		Hymenoptera:Apidae (Apis mellifera) Lepidoptera:Lymantriidae (Lymantria dispar[22])
Metarhizium anisopliael Symphyla(h) Orthoptera(h) Dermaptera(r) Isoptera(h) Homoptera(h) Heteroptera(u) Diptera(h) Coleoptera(h) Siphonaptera(h) Lepidoptera(h)	Malacostraca Amphipoda Acari Astigmatidae (Histogaster anops(u). Mesostigmatidae (Macrocheles sp.(u)) Emphemeroptera(u) Dermaoptera Forficulidae(r) (Forficula auricularia(r). F Labidura[2]) Heteroptera Velidae(1) Diptera: Asilidae (Pleiomma sp (r)). Chironomidae (Chironomus) sp (u)). Culicidae (Toxorhynchites amboinensis(h)[1]) Tachinidae (Dexiarustica(r)). Tipulidae (Tipulidae sp) Coleoptera Carabidae(r) (Amara obesa(r). Colpodes japonicus Omus sp.(r)). Coccinellidae (Epilachna sp (r)). Gyrinidae(h). Lampyridae (Lamprophorus sp.(r)) Hymemoptera Apidae (Apis mellifera(1-h)). Formicidae(r)[1] Ichneumonidae (Amblyteles sp.(r)). Scoliidae (Campsomeriis quadrifasciata(r). C. Radula. C Tasmaniensis(u)). Sphecidae (Sceliphron spirifex(r)). Tiphiidae (Tiphia inornata(u)). Vespidae(r) (Vespa sylvestris(r) Lepidoptera:Bombycidae (Bombyx mori(h)	Gastropoda1 Branchipoda:Anostraca. Caldocera (Daphnia sp.[180]) Copepoda:Cyclopoida (Cyclops sp.) Odonata:anisoptera Diptera:Culicidae (Aedes aegypti). Tachinidae (Metagonistylum minense. Paratheresia claripalpis) Coleoptera:Tenebrionidae (Tenebrio molitor) Hymenoptera:Braconidae (Apanteles flavipes)
Nomuraea rileyil Heteroptera(u) Diptera(r) Lepiodoptera(h) Coleoptera(h)	Araneae (r) Lepidoptera:Bombycidae (Bombyx mori(h))	Hetroptera:Pentatomidae (Podisus maculiventris.[1]) Diptera Culicidae (Aedes aegpti. Anopheles stephensi. Culex pipiens[17]). Muscidae (Glossina morsitans). Tachinidae (Voria ruralis) Coleoptera Coccinellidae (Hippodamia convergens[5]). Chrysomelidae (centonia aurata[51])) Curculionidae (Chalcodermus aeneus.[2] Hypera postica[9]). Scarabaeidae (Melolontha melolontha.
		Oryctes rhinoceros). Tenebrionidae (Tenebrio miliorm Tribolium confusum)[2] Hymenoptera:Braconidae (Apanteles marginiventris.[95] Microplitis croceipes). Ichneumonidae (Campoletis soronensis). Scelionidae (Telenomus prodior[7]) Neuroptera Chrysopidae (Chrysoperal carnea) Lepidoptera Noctuidae (Heliothis virescens). Pieridae (Pieris rapae). Sphingidae (Manduca quinquemaculata. M sexta)[1]
Paecilomyces farinosusl Homoptera(h) Heteroptera(r) Phasmida(r)	Arancar(r)[1] Collembola Entomobryidae (Entomobrya unostrigata(u)) DipteraLCecidomyiidae (Aphidoletes thompsonii(u)).	Araneae:Ciniflo ferox Lepioptera:Lemantriidae (Lymantria dispar[02])

تابع جدول (٥- ٣) المدى والتخصص العوائلى لبعض الممرضات الطرية على اللافقاريات

Diptera(1) Coleoptera(h) Menoptera(r) Loidoptera(h)	Tachinidae(r) Coleoptera Carabidae (Bioscus cephalotes(m). Harpalus pubescens(1). Pterostichus cupreus(1)). Derodontidae (Laricobius erichsonii(u)) Hymenoptera. Apidae(r) (Apis mellifera(m). Bombus terrestris. Psithyrus bohemicus(u)). Formicidae (Anoplolepsis longipes). Ichneumonidae.[22] Pteromalidae (Dibrachys affinis(h)). Vespidae (Vespa sylvestris(r) Lepidoptera: Nctuidae (Hypocrita jacobaeae(r)). Bombycidae (Bombyx mori(h))	
Paecilomyces lilacinusl Nematoda(h) Homoptera(h) Heteroptera(r) Coleoptera(r)	Lepidoptera:Bombycidae (Bombyx mori(r))	Diptera:Culicidae (Aedes aegpti. Anopheles stephensi. Culex pipiens1) Coleoptera:Tenebrionidae (Tenebrio molitor. Tribolium confusum) Lepidoptera:Pyralidae (Plodia interpunctella)
Tolypocladium cylindrosporuml Diptera esp. Culicidae(h) Ceratopogonidae(h) Lepdotpera(1-h)	Branchiopoda:Cladocera (Daphnia carinata(m)) Copepoda:Harpacticidae (Tigriopus sp.(h)) Ephemeroptera:Lepophlepiidae (Deleatidium sp.(m)) Diptera:Chaoboridae (Chaoborus crystallinus(1). C. trivittatus(h). Dixdae (Paradixa sp.(h)). Psychodidae)	Blattaria:Blattellidae (Blattella germanica) Heteroptera:Lygaeidae (Oncopeltus fasciatus) Notonectidae (Anisops sp.)
Verticillium lecaniil Acari(r) Nematoda(r) Orthoptera(h) Thysanoptera(m) Homoptera(h) Diptera(r) Coleoptera(h) Lepidoptera(r)	Acari.Oribatidae(r) Araneae(r) Collembola.Isotomidae (Podura longicornism Folsomia cavicola) Heteroptera.Nabidae (Nabis alteranatus(h)) Hymonoptera Aphelinidae (Encarsia formosa(1). Apidae (Apis mellifera(1) Bombus terrestris(h). Psithyrus bohemicus(r)). Braconidae (Aphidius matricariae(u). Lysiphlebis sp.(u)). Eulophidae (Diglyphus intermedius(1). Terastichus eriophyes(u)). Ichneumonidae(r). Torymidae (Torymus cyanimus(r))	Acari:Phytoseiidae (Phytoseiulus persimilis) Branchiopoda:Cladocera (Daphnia sp.) Oligochaeta:Lumbricidae Diptera:Culicidae (Aedes aegyptim Anopheles stephensi. Culex pipiens) Coleoptera:Coccinellidae (Hippodamia quinquesignata) Lepidoptera:Pyralidae (Ostrinia unbilais)

Note: Suscepibiliy: (h) = high (75 o 100%), (m) = moderate (50 to 75%), (1) = low (<50%), (u) = unknown, (r) = rare, usually known only from single records.

a Not susceptible to certain strains.

وفى بعض الاحيان يكون تعريف كلا من الممرض والعائل محل شكوك كما أن المدى العوائلى نادرا ما يتأكد منه تجريبيا. بالاضافة الى ذلك فان هذه القوائم تعتمد على نوع الفطر بينما أظهرت الدراسات المعملية أن العزلات المختلفة للنوع ذات المدى العوائلى الواسع تكون أكثر عنفوانية للعائل الذى عزلت منه أولا. هذا الاختلاف فى العنفوانية تبعا لنوع العائل عادة لا يوجد عندما يعدى الفطر خلال الحقن فى هيموسيل العائل. لقد أدى ذلك الاقتراح بأنه فى هذه الحالات فان المقاومة تكون على مستوى الكيوتيكل.

الفطريات تكون أكثر تخصصية تحت الظروف الحقلية خاصة خلال الاصابات الوبائية Epizootics. توجد تقارير عديدة تشير الى أن الفطريات تهاجم عائل واحد فقط حتى وجود أنواع حساسة قريبة منه. هذه المقاومة يعتقد أنها تحدث نتيجة للتداخلات الحيوية وغير الحيوية abiotic التى تحدث فى الحقل. الانواع العديدة من الفطريات التى يعتقد أنها ذات تخصص على مستوى الرتبة أو العائلة الحشرية نادرا ما اختبرت لمعرفة عدم مقدرتها على احداث العدوى أو المرضية للأنواع من الرتب أو العائلات المختلفة. بعض الحشرات يسهل عدواها فى المعمل بواسطة الفطريات غير المعروف أنها تهاجمها فى الطبيعة. من جهة أخرى فان بعض أنواع الفطريات ذات تخصص عالى. كمثال فان العائل الوحيد المعروف لحشرة *Entomophaga maimarga* هى الفراشة الغجرية "ليمتاريا ديسبار" فى اليابان. فى واحدة من التجارب الخاصة بالمدى العوائلى القليل Entomophthorales نجحت العزلة *E. maimaiga* فى عدوى قليل من حرشفيات الاجنحة فقط والتى أختبرت والتى لا تمثل رتب حشرية أخرى. عندما تمت عدوى ديديان الفراشة الغجرية عن طريق حقن البروتوبلاست وصلت نسب الموت الى ٨٧- ١٠٠%. على العكس أدى حقن *E. aulicae* و *E. grylli* من مختلف مصادر الحشرات الى عدم احداث موت. هذا يوضح أن مقاومة العائل فى بعض الفطريات ذات التخصص العائلى ليس من الضرورى أن تكون على مستوى الكيوتيكل.

التخصص العوائلى يحتاج لمزيد من البحوث والدراسات من منظور مدى احداث العدوى فى مفصليات الارجل وكذلك من منظور العوامل أو التداخلات الحيوية واللاحيوية المسئولة عن التقييد restriction أو التمديد extension. من منطلق تعضيدات الوضع الحقلى يجب اتخاذ الحيطة والحذر الشديدين عند محاولة استقراء النتائج من التجارب المعملية لما قد يحدث فى الحقل.

التأثيرات على اللافقاريات غير المستهدفة:

أ- النحل وغيره من الملقحات Pollinators: نحل العسل يستخدم فى الانتاج التجارى للعسل وهو أكثر الملقحات أهمية فى المحاصيل الزراعية. من الطبيعى أن الموافقة على استخدام مبيد فى الزراعة يجب أن يصاحبه تقييم لتأثير هذا المبيد على نحل العسل. اختبارات الامان هذه مطلوبة لغرض تسجيل المبيد فى معظم بلدان العالم بل هى احدى متطلبات التسجيل. لم تسجل أية حالات لامراض أو اصابات وبائية من جراء استخدام وسيلة مكافحة فطرية على نحل العسل أو غيره من الملقحات الهامة مثل حشرات السيرفيدى Syrphids. لقد نشر أن الفطريات سواء المتوطنة طبيعيا أو ذات المقدرة على احداث العدوى فى الظروف المعملية ولوأن بعض الانواع الاخرى غير قادرة على احداث العدوى فى هذه الحشرات النافعة (جدول ٥- ٣).

العديد من الفطريات وجدت في أنواع Bombus spp سواء فى المستعمرات الحقلية الطبيعية وكذلك فى مستعمرات الصوب تحت الاختبار. على وجه الخصوص تم عزل *B.bassiana* ، *P.fainoss* ، *V.Lecani* (سيفادوسبوريم) من ملكات النحل *B.terrestris*. لقد تكرر عزل فيرتيسبيوم ليكانى من المستعمرات التجريبية والحقلية للعديد من أنواع برمبس وكذلك P.bohemicus. لقد تم عزل بوفاريا برونجياراتى (= تينيلا) من عذارى شغالات نحل العسل. الملاحظات الفردية عن بوفاريا باسيانا من الحشرات الكاملة للنحل سجلت بواسطة الباحث Alves (١٩٨٧) فى البرازيل و Rombach (١٩٨٧) فى كوريا. لقد عزل *Metarhizium anisopliae* من نحل العسل البالغ كذلك.

لقد أجريت دراسات عديدة فى محاولة لعدوى نحل العسل بوسائل المكافحة الفطرية. لقد وجد أن بوفاريا باسيانا ذات مقدرة فى احداث عدوى فى النحل البالغ حيث أشار الباحث Vincens (١٩٢٣) الى انتشار العدوى فى النحل المصاب. على العكس أشار الباحث Toumanoff (١٩٣١) الى أن الموت الذى لاحظه يرجع الى التوكسينات حيث أنه لم يجد على الاطلاق بوفاريا باسيانا وبوفاريا فارينوسس تستعمر تجويف الجسم. لقد أستخدم Vandenberg (١٩٨٧) مستحضر تجارى من بوفاريا باسيانا وتحصل على معدلات عدوى عالية بين النحل البالغ فى الاقفاص مع جرعات حوالى $١٠x١^{٤}$ جراثيم لكل نحلة. فى اختبار التحدى فى المعمل مع *M. anisopliae* أصبح أقل من ١٠% من النحل المعدى مصابا. لقد سجل أن الفيرتيسيليوم ليكانى قادرة على احداث العدوى فى النحل. هذا ولو أن دراسات أخرى على مستحضرات *V.Lecans*

أظهرت أن الموت يرجع الى السد "الميكانيكى للفتحات التنفسية الصدرية وليس للعدوى".

لقد وجدأن النحل البالغ غير حساس للعدوى بالعديد من الفطريات الاخرى فى مختلف الاختبارات. الفطريات التى أختبرت شملت *C.calvisporus* ، *E.maimaiga* ، *H.thompsonii* ، *L.gigateum*. حيث أنه لم تسجل أية حالات وبائية فى الطبيعة من جراء استخدام وسائل لمكافحة الفطرية بين نحل العسل والملقحات الاخرى فانه لا يوجد الا خطر قليل على هذه الحشرات اذا أجرى تطبيق هذه الفطريات فى الحقول. بالطبع يجب توخى الحيطة والحذر اذا تضمن التطبيق التعريض المباشر لمستعمرات النحل أو السارحات أو جامعات الرحيق Foragers.

ب- ديدان الحرير: الأمراض الفطرية أحدثت انهيار ودمار كالطاعون فى مزارع تربية ديدان الحرير منذ بدأ الانسان فى استخدام الحشرات لانتاج الحرير. من خلال العمليات والتقنيات الحديثة مثل السيطرة والتحكم فى درجات الحرارة والرطوبة فى أماكن تربية دودة الحرير وكذلك اختيار السلالات الجيدة واتباع اجراءات النظافة الصحية تم انحسار الامراض الفطرية فى مزارع ديدان الحرير أو استمرت موجودة فى مستوى تحت الحد الاقتصادى. فى الحقيقة فان النجاح فى مكافحة الامراض الفطرية Mycoses المتسببة عن بوفاريا باسيانا فى مزارع تربية ديدان الحرير فى الصين أدت الى حدوث نقص حاد فى الديدان المعدية ذات القيمة من منظور الاغراض الطبية. لقد أمكن التغلب على هذا النقص عن طريق تبطئ العدوى فى عذارى ديدان الحرير بعد لف الحرير.

العديد من أنواع وسائل المكافحة الفطرية المؤثرة تستطيع احداث الاصابات الوبائية فى دودة الحرير *Bombyx mori*. هذه الوسائل تشمل بوفاريا باسيانا، نوميرياريليا، باسيلوماسيس فارينوسس، ميتارهيزيوم أنسيوبليا وغيرها. لهذا السبب يكون من غير القانونية أو الشرعية استخدام المبيدات الحشرية الميكروبية فى بعض مناطق اليابان والصين. لو أنه لم يحدث أية اصابات وبائية من جراء استخدام بوفاريا باسيانا فى دودة الحرير فى العديد من مناطق الصين حيث أستخدمت على نطاق واسع فى مكافحة الافات حتى عندما طبقت فى مزارع على بعد ٧٠ متر من مزارع دودة الحرير.

لقد أكدت نتائج الدراسات التى أجريت فى الصين أن استخدام بوفاريا باسيانا فى مكافحة الافات لم تسبب أية أضرار على صناعة الحرير. كجزء من الدراسة تم

وضع أبنية ومظلات دودة الحرير في مزارع الصنوبر. ما بين ١٩٧٥- ١٩٧٦ تمت معاملة ١١٠ هكتار ستة مرات بكمية ٢١٠٠ كجم من مستحضر بوفاريا باسيانا. لقد تحصل على مكافحة جيدة لديدان الصنوبر وكان وجود العدوى بالبوفاريا باسيانا في ديدان الحرير أقل من ٤%. هذا غير مختلف احصائيا عن الموت في مناطق التربية غير المعاملة. أوضحت دراسات معملية اضافية أن سلالات بوفاريا باسيانا التي عزلت من ديدان الصنوبر كانت ١٠٠ مرة أقل في العنفوانية على ديدان الحرير عن السلالات التي عزلت من الاخيرة. لقد سجلت نفس الاختلافات في حساسية *Bombyx mori* للعزلات المختلفة من البوفاريا باسيانا.

ج- **المفترسات وأشباه الطفيليات:** لكي نحمي وسائل المكافحة الحيوية اللافقارية للآفات الحشرية يجب أن نأخذ في الاعتبار التأثيرات المعاكسة الممكنة لوسائل المكافحة الفطرية على هذه الكائنات. لقد اتضح في عدد من الحالات أن الفطريات قد تكون ضارة بشكل مباشر أو غير مباشر على المفترسات وأشباه الطفيليات. لقد أظهرت دراسات أخرى أن الاثنان قد يتوافقا في نفس الوقت. لقد لوحظت الامراض الفطرية Mycoses في عدد من المفترسات وأشباه الطفيليات (جدول ٥- ٣). القليل معروف عن وبائية epizootiolosy لهذه الامراض الفطرية والتأثيرات الناتجة على مكافحة الانواع المستهدفة ولو أن الدلائل كلها تشير الى أن المرضية الفطرية في الطبيعة في هذه الحشرات غير شائعة نسبيا والعديد من الانواع تقاوم العدوى. من الاستثناءات حدوث وبائية الاصابة من البوفاريا باسيانا في مفترسات أبي العيد في البيات الشتوي. لقد أدى ذلك الى الاقتراح بأن استخدام بعض وسائل المكافحة الحيوية قد يؤثر عكسيا على بعض مجاميع المفترسات خلال البيات الشتوي. البوفاريا باسيانا تحدث كذلك اصابات وبائية في مزارع التربية الموسعة للمفترس Dendroctonus وهو *R.grandis* ولو أن هذه العدوى يمكن السيطرة عليها عن طريق الاجراءات الخاصة بالنظافة الصحية.

في احدى الدراسات القليلة التي صممت لتحديد تأثيرات استخدام الفطريات على الكائنات غير المستهدفة NTO's وجد الباحثين أن استخدام جراثيم *B.brongriartii blastospores* في مكافحة خنفساء مايو *M.melolontha* أدت الى احداث عدوى شاملة بمعدل ١,١% في اللافقاريات غير المستهدفة. لم تسجل أية عدوى في المفترسات مثل أبو العيد وشبكيات الاجنحة ولو أن أكثر من ٩% من العناكب وجدت مصابة. لذلك

خلص الباحثون الى أن استخدام البوفاريا برونجياراتى لم يضر بمجموع اللافقاريات غير المستهدفة حيث أن الموت الشامل كان منخفضا كما أن مصدر العدوى سرعان ما يختفى من البيئة.

وسائل المكافحة الفطرية قد تؤثر على المفترسات وأشباه الطفيليات بطريق غير مباشر من خلال خفض مجموع العائل أو فى حالة أشباه الطفيليات من خلال المنافسة فيما بينها فى نسيج العائل. المثال التقليدى للتأثيرات غير المباشرة عن طريق خفض تعداد العائل ما وجده الباحثان Ullyett and Schonken (١٩٤٠) فى جنوب أفريقيا. لقد وجد أن الوباء الطبيعى يحدث فى بداية الموسم.

لو أن أشباه الطفيليات بوجه عام لا تعدى بالفطر داخل نسيج العائل. فان العديد من الدراسات أظهرت أن كلا أشباه الطفيليات والممرضات قد تتنافس على نسيج العائل. أشباه الطفيليات تجعل العائل ميالا للعدوى. فى العادة يتفادى الممرض الاطوار المبكرة من أشباه الطفيليات بينما الاطوار المتأخرة العجوزة تكون ذات مقدرة على استكمال تطورها.لقد حدث ذلك فى العلاقات الفطر/شبيه الطفيل/العائل بين *Nomuraea rileyi/ Microplites croceipes/ Heliothis zea* وغيرها. تسهيل عدوى الفطر فى العوائل المتطفل عليها يعتقد أنها نتيجة لضعف جليد العائل مما يسهل من دخول الفطر. التطور المتتابع للفطر داخل العوائل المتطفل عليها تثبط بواسطة مادة مضادة للفطر antimycotic تعزز بواسطة شبيه الطفيل. المادة المضادة للفطريات تنتج كذلك بواسطة بكتريا المعيشة التكافلية Symbiotic bacteria المسماه *Xenorhabdus nematophilus* فى النيماتودا الممرضة للحشرات *S.feltiae*. بالرغم من ملاحظة العدوى الفطرية للنيماتودا الممرضة للحشرات الا أنه لا يعرف ما اذا كانت المواد المضادة للفطريات تحمى النيماتودا من العدوى بالفطر داخل عائلها.

لقد أجريت دراسات قليلة نسبيا لمعرفة التوافق Compatibility بين الفطريات الممرضة للحشرات مع أنواع أشباه الطفيليات أو المفترسات الطبيعية أو المدخلة بهدف تحديد أيهما يستخدم بكفاءة أكثر فى الادارة المتكاملة للآفات. التواجد المرافق الفعال Coexistence للأنواع هيرسوتيللا، ميوفاجس، أنتوموفثورا والطفيليات والمفترسات فى مكافحة مفصليات الارجل فى بساتين الموالح تأكد فى فلوريدا. لقد وجد Ignoffo أن الانتشار الوبائى للفطر نوميورياريلياى فى حرشفية الاجنحة عن النوكتويد بلاثيبينا سكابرا لم يؤثر بشكل واضح على كفاءة معقد الطفيل الطبيعى على الافة. لقد أظهرت العديد من الدراسات والتوافق بين الفطر وأشباه الطفيليات أو المفترسات فى برامج

الادارة المتكاملة للآفات. لقد أظهرت الدراسات التى أجريت فى البرازيل أن من الممكن استخدام الفطر *Metarhizium anisopliae* وثلاثة من أشباه الطفيليات لثاقبة قصب السكر دياتريا ساكاراليس فى توافق فى برامج مكافحة افات قصب السكر. لقد تحققت نجاحات اكثر باستخدام وسائل المكافحة الحيوية الفطرية فى توافق مع المفترسات وأشباه الطفيليات فى الصوب. يمكن استخدام الفريتيسيليوم ليكانى مع الاكاروس المفترس الفيتوسيليس بيرسيميليس والدبور النافع انكارسيا فورموزا. لقد اتضح أنه فى العديد من الحالات فان وسائل المكافحة الحيوية الفطرية يمكن أن تتكامل مع أشباه الطفيليات والمفترسات. أن استراتيجية اطلاق الفطريات الممرضة للحشرات وأشباه الطفيليات تأكدت أهميتها. فى العديد من الحالات تأكد حدوث توافق من خلال الفعل المشترك ضد العائل ومنع التضاد والمنافسة أو التثبيط بين كلا أنواع وسائل المكافحة الحيوية.

د- **الكائنات الاخرى:** ولو ان العديد من الفطريات معروف عنها المقدرة على عدوى اللافقاريات غير الحشرية فانه مع قليل من الاستثناءات فان الفطريات الممرضة للحشرات لاتحدث فى هذه الكائنات. أكثر اختبارات التحدى على الكائنات غير المستهدفة أجريت على الفطريات الممرضة للبعوض *C.opifexi* ، *L.giganteum* ، *L.chapmaniic* ، *C.clavisporus* و *M.anisopliae*. أظهرت نتائج هذه الدراسات أن هذه الفطريات غير ضارة لمعظم اللافقاريات المائية غير المستهدفة. نقص العدوى الطبيعية فى هذه الكائنات عضدت هذه النتائج. لذلك فإنه قد توفرت الادلة على أن الممرضات الحشرية الفطرية ذات كفاءة فى برامج المكافحة مع الحشرات أكثر منها مع اللافقاريات الاخرى.

الخلاصة: المعلومات المتوفرة حاليا على كفاءة وسائل المكافحة الفطرية توضح أن هذه الكائنات ذات أقل خطورة على الكائنات غير المستهدفة. فى الحقيقة فانه بمقارنتها بالمبيدات الحشرية الكيميائية ان وسائل المكافحة الحيوية الفطرية تقدم من بين المميزات الاخرى طريقة مكافحة ذات مدى عوائلى ضيق جدا يمكنها أن تتكامل مع غيرها من وسائل المكافحة الحيوية ومن ثم تستطيع أن تحقق مكافحة على المدى الطويل من جراء استقرارها وتدويرها فى المسكن ومكان المعيشة علاوة على قابليتها للانهيار الجوى *biodegradable*.

من أفضل الحالات الموثقة عن التأثيرات الضارة للفطريات الممرضة للحشرات على اللافقاريات غيرالمستهدفة تتمثل فى التأثيرات غير المباشرة على مجاميع المفترسات وأشباه الطفيليات من خلال استنزاف العائل. فى بعض الحالات قد يحدث الفطر تأثيرات معاكسة مباشرة على بعض اللافقاريات غير المستهدفة بما فيها المفترسات وأشباه الطفيليات. يجب الإقرار بأنه من غير الممكن تقليل مستوى مجموع الافه دون احداث تأثيرات معاكسة مباشرة على بعض اللافقاريات غير المستهدفة بما فيها المفترسات وأشباه الطفيليات. يجب الإقرار بأنه من غير الممكن تقليل مستوى مجموع الافة دون احداث تأثيرات معاكسة على مكون اخر من النظام البيئى. على سبيل المثال انه مع انحسار أو خفض مجموع العائل فانه يكون من المحتوم حدوث تأثيرات معاكسة على المفترسات والطفيليات فى هذه الحالات تكون مسئولية القائم بادارة التعامل مع الافات أن يحقق التكامل فى استخدام وسائل المكافحة الحيوية حتى يستطيع استخدام كل طرق المكافحة المتاحة فى نظام أكثر كفاءة وعقلانية. كمثال فان الحفاظ على الحشرات النافعة قد تتطلب فقط توقيت مناسب لاستخدام الفطريات.

فى أى حالة يجب التأكد من أن الفطر موصف وراثيا وبديهيا لاينتج عنه الا أقل المخاطر ومع هذا يجب أن يدار التعامل معه بشكل يحقق الامان. لذلك فان تسجيل الفطريات ووضع معايير ومحددات لها من الاهمية بمكان. معظم الدلائل الخاصة بتسجيل الفطريات الممرضة للحشرات تتطلب اجراء اختبارات على مقدرة العدوى للافقاريات غير المستهدفة. ان محدودية المعلومات الحالية عن تخصص الفطريات وكيفية ارتباطها بحدوث الاصابات الوبائية تجعل من المستحيل استقراء البيانات المتحصل عليها تحت ظروف الحقل. الدراسات المحدودة عن العدوى فى المعمل مع المنتج المجهز ضد اللافقاريات غير المستهدة قد تؤدى الى تعريف مخاطر استخدامها تحت الظروف الحقلية.

محدودية استخدام وسائل المكافحة الحيوية الفطرية ترجع الى نقص تواجد المستحضرات النهائية. القطاع الخاص فى المقابل يرفض تطوير المنتج الذى يتطلب اختبارات لتأكيد الامان بتكاليف عالية ودراسات مكثفة قبل الوصول لمرحلة التقييم الحقلى. لذلك فانه من غير الممكن تجنب اجراء كل متطلبات التسجيل وتأكيد الامان ولكن يجب بل من الضرورى تحقيق ذلك دون التأثير على تتابعات وخطوات اجراء الاختبارات واستخدام هذه المستحضرات. من أفضل الاقترابات لتأكيد الامان على المدى الطويل على اللافقاريات هو استمرار اجراء الاستكشاف خلال التطبيق الحيوى بعد الاختبارات الاولية على مستوى المعمل والحقل.

REFERENCES

Alves, S. B., Personal communication, 1987.

Anon., Annual Report Rothamsted Experimental Station, United Kingdom, 1984, 93.

Cameron, J. W. M., Suitability of pathogens for biological control, in Insect Pathology and Microbial Control, Proc. Int. Coll. Insect Pathol. Microb. Control, Wageningen, 1967, 182.

Chapman, H. C., Davidson, E. W., Laird, M., Roberts, D. W., and Undeen, A. H., Safety of microbial control agents to non-traget invertebrates, Environ. Conserv., 6, 278, 1979.

Engler, R. and Arata, A. A., Public health and environmental safety, in Tests:The Fuure for Biological Methods in Integrated Control, Laird, M., Ed., International Development and Research Center, Ottawa, 1977, 157.

Ferron, P., Biological control of insect pests by enomogenous fungi, Annu. Rev. Enomol., 23, 409, 1987.

Ferron, P., Pest control by the fungi Beaveria and Metarhizium, in Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980, Burges, H. D., Ed., Academic Press, London, 1981, 465.

Flexner, J. L., Lighthart, B., and Croft, B. A., The effects of microbial insecticides on non-terget, beneficial arthropods Agric. Ecosyst. Environ., 16, 203, 1986.

Hall, R. A., Zimmermann, G., and Vey, A., Guidelines for the registeration of entomogenous fungi as insecticides, Entomophaga, 27, 121, 1982.

Ignoffo, C. M., he fungus Nomuraea rileyi as a microbial insecticide, in Microbial Control of Pests and Plant Diseases: 1970-1980, Burges, H. D., Ed., Academic Press, New York, 1981, 513.

Jatala, P., Personal communication, 1987.

Muller-Kogler, E., Pilzkrankheiten bei Insecten, Paul Parey, Berlinm 1965.

Pimental, D., Glenister, C., Fast, S., and Gallahan, D., Inveronmental risks of biological pst controls, Oikos, 42, 283, 1984.

Rombach, M. C., Personal communicationm 1987.

Steinhaus, E. A., Principles of In t Pathology, McGraw-Hill, New York, 1949.

Toumanoff, C., Acion des champignons enomophytes sur les abeilles, Ann. Parasiol. Hum. Comp., 9, 462, 1931.

Ullyett, G. C., and Schonken, D. B., A Fungus disease of Plutella maculipennis Curt. In South Africa, with noes on the use of entomogenous fungi, Union S. Afer. Dep. Agric. For. Sci. Bull., 218, 1, 1940.

Vincens, F., Su rune muscardine a Baeuveria bassiana produite experimentalement sur des abeilles, C. R. Acad. Sci., 177, 713, 1923.

ثانيا: أمان الوسائل الحيوية النيماتودية:

مدى النيماتودا التى تؤثر على الحشرات كبير كما أن التداخلات بين النيماتودا والحشرات مختلفة ومتفاوتة. لقد أمكن تمييز بعض أنواع النيماتودا كأحياء مفيدة فى المكافحة الحيوية والقليل منها أختبر على النطاق التجارى. لو أن النيماتودا *Romanomermis culicivorax* تنتج تجاريا بغرض مكافحة البعوض الا أن هذا الانتاج قد توقف. النيماتودا التى تستخدم فى الوقت الراهن فى مكافحة الحشرات هى *Deladenus siricidicola* وهو طفيل متخصص لمكافحة دبور الخشب سيريكس نوكتيليو وكذلك الممرضات الحشرية ذات المدى العوائلى العريض *Steinernematidae* و *Heterorhabdiidae*.

نيماتودا *Dealenus siricidicola*: اطلاق النيماتودا هذه كوسيلة حيوية تقليدية فى المكافحة ضد دبور الخشب فى استراليا عام ١٩٧٠ كانت من أول التطبيقات الناجحة للنيماتودا فى مكافحة الافات الحشرية. فى الوقت الراهن توزع هذه النيماتوداوتستخدم فى مئات أو الاف الهكتارات.

أ- **تاريخ الحياة:** دبور الخشب *S.nocilio* من الافات الخطيرة للصنوبر بينس (المتوطنة فى جنوب كاليفورنيا) فى استراليا ونيوزيلندا. الانثى البالغة تنجذب للشجرة العائل وتضع البيض وحينئذ تقوم بحقن الشجرة بجراثيم الفطر *Amylostereum areolatum*. تقوم يرقات الحشرة *Siricid* تتغذى على الخشب المتحلل بالفطريات ثم تحدث الانفاق فى الشجرة. توجد ثلاثة أنواع من الأعداء الطبيعية لدبابير الخشب فى السيريسيد وهى: أشباه طفيليات البيض (غشائية الاجنحة *Ibaliidae*) وأشباه طفيليات اليرقات (غشائية الاجنحة *Ichneumernidae*) والنيماتودا المتطفلة (*Deladenus spp :Neotylenchidae*). أحد أنواع هذه النيماتودا وهى *D.siricidicola* تعتبر من وسائل المكافحة الكبرى لدبور الخشب.

دورة الحياة غير العادية للنيماتودا *D.siricidicola* درست بواسطة الباحث *Bedding* (١٩٦٧،١٩٧٢). الاناث البالغة للصورة الحشرية المتطفلة *Entomogenous* تتطور فى هيموسيل الدبور البالغ المصاب. عند تعذر العائل يوجد نمو زائد كالانفجار فى الجهاز التناسلى لنيماتودا وتنتج ما يزيد عن ١٠٠٠٠ بيضة لكل فرد نيماتودا. الافراد حديثة الفقس الشبابية *juveniles* تهرب من الاب الى هيموليف الحشرة وتهاجر الى مبايض العائل أو الخصيات. فى اناث *S.noctilio* (معظم السلالات) فان النيماتودا

الشباب تلتصق أو تحزم فى البيض مما يجعل البيض غير حى *nonviable*. آفة خشب الصنوبر *S.noctilio* المعدية تضع البيض طبيعيا وفى هذا السبيل تنقل النيماتودا الى الاشجار الجديدة.

النيماتودا *D.siricidicola* تنتقل بواسطة اناث دبور الخشب التى تتغذى على الفطر الذى يعيش تكافليا مع الحشرة *A· eolatum* وينمو داخل الحشرات الكاملة الملتهمة للفطر *mycetophagous* خلافا لأبويها المتطفلة. الصورة الملتهمة لمسيليوم الفطر فى النيماتودا سيريكيديكولا تتغذى وتنمو وتتكاثرفى *tracheids* وقنوات الراتنج وبين القلف والكامبيوم ثم تنتشر خلال الشجرة. حيث أن دبور الخشب *S.nocilio* يهاجم الاشجار خاصة التى تجذبها مع العلم بأن الشجرة الحساسة تهاجم فى العادة بالعديد من اناث دبور خشب الصنوبر. مجموع النيماتودا المنتشرة سوف يتلف اليرقات التى فقست فى البيض الموضوع بواسطة الحشرات غير المصابة. فى البيئة الدقيقة المحيطة بيرقات دبور الخشب يحدث تغير فى تطور النيماتودا الشابة *Juvenile* بدلا من التطور فى اليافعات الاكولة للهيفات فانها قد تصبح فى طور الاناث المعدية أو الذكور فيها كل من الجين المنوى أكثر قليلا من النواه عما هو الحال مع الجين المنوى الاميبى الذى يوجد فى جيل الالتهام الفطرى. بعد التزاوج قد تكون الاناث فى الطور المعدى بالثقب خلال كيوتيكل يرقات دبور الخشب ّخل الى الهيموسيل.

ب- **التخصص** *Specificity*: لقد قام *Bedd.ng and Akhurst* (١٩٨٧) بفحص التفضيل الغذائى للنيماتودا من أنواع ديلادينس المرتبطة بدبابير الخشب من *Siricid* وأشباه الطفيليات الحشرية الخاصة بها. الصورة الجاذبة للحشرات فى *D.siricidicola* تتطفل بنجاح على بعض أنواع السيريسيد والسيروبالبس بارباتس وهى من الخنافس الشائعة المرتبطة بالسيربيدات. الصورة الملتهمة للفطريات اكثر تخصصا. ولو أن *D.siricidicola* يتغذى بدرجة بسيطة على الفطريات من أجناس أخرى فان النيماتودا سوف تتكاثر عندما تتغذى على عائل واحد فقط هو *A.areolatum*. حتى فى المعيشة التكافلية *Symbiont* لبعض أنواع سيريسيد فان *A.chailleni* لا يعضد التكاثر بواسطة النيماتودا المعروفة *D.siricidicola*.

ج- **التأثير على اللافقاريات غير المستهدفة:** يمكن النظر الى النيماتودا *D.siricidicola* على أنها طفيل يحفز انتقاله الى الى العوائل الجديدة بواسطة التضاعف فى البيئة التى يوجد فيها عائله أو ينظر اليها على أنها متغذى فطرى

تستخدم العائل الحشرى كوسائل للنقل الى الطريات الطازجة. فى طريق اخر فانها ترتبط فى البيئة لعوائلها من سيرسيبد عن طريق التخصص الكامل لدورة التهام الفطر *mycetophagous cycle* الى الفطريات. *A.areolutum* واعتماده على هذه الدورة. فى داخل البيئة توجد فرصة لاحداث العدوى فى عدد قليل نسبيا من الكائنات غير المستهدفة *NTO's*. لو أن النيماتودا تدخل يرقات أشباه الطفيليات الحشرية لعوائلها من السيريسيد فان النيماتودا تكون غير قادرة على استكمال تطورها ومن ثم لا تحدث أضرار لأشباه الطفيليات. اللافقاريات الوحيدة غير المستهدفة التى تضار هى تلك التى تعدى وتصيب أشجار السيريكس الميتة أو المقتولة. من غير المحتمل أن أى لافقرى داخلى يعتمد كلية على *Pinus radiata* حيث تستخدم النيماتودا *D.siricidicola* فى المكافحة لأن الشجرة ما هى الا نوع دخيل.

النيماتودا *Steinernematidae* **و** *Heterorhabdiidae*:

النيماتودا من عائلتى ستيزنيماتدى وهيتيرورابتيدى ذات دور فعال فى مكافحة مدى واسع من الافات الحشرية. حيث أن تطور طرق الانتاج الواسعى والاقتصادى والتخزين يحز ويشجع مجهودات الحصول على نيماتودا يمكن أن تنتج وتستخدم على المستوى التجارى.

أ- **دورة الحياة:** الطور المعدى للنيماتودا يوجد عادة فى التربة أو مقالب النفايات وهو يعتبر طور شاب غير متغذى يحمل نوع واحد فقط من البكتريا وهى النوع المرتبط المتخصص *Xenorhabdus* داخل أمعاؤه. فى غياب العائل المناسب فان الشابات القادرة على العدوى قد تدوم شهور أو حتى سنوات بدون التغذية وتنجذب النيماتودا للعائل الحشرى وتدخل خلال الفتحات الطبيعية (الفم- الشرج. الثغور التنفسية) وفى حالى النوع *Heterorhabditis* تتغذ وتخترق مباشرة خلال الكيوتيكل غير المتغلظ *Unsclerotized cuticle*. تقوم النيماتودا بغزو الهيموسيل حيث يحرر البكتريا المرتبطة به. يموت العائل مع تكبير وتضخيم البكتريا فى الضحية أو الجيفة *Cataner* مع انتاج المواد المغذية الضرورية للنيماتودا والعوامل المضادة للميكروبات التى تثبط نمو العديد من الكائنات ت الدقيقة الاخرى. النيماتودا تتغذى وتتكاثر داخل الحشرات الميتة وتنتج جيل جديد من الشابات القادرة على احداث العدوى والتى تهاجر بعد ذلك من الجيفة.

ب- **التخصص:** أوضحت الدراسات المعملية أن هذه النيماتودا ما هى الا ممرضات حشرية غير متخصصة. لقد تأكد نقص التخصصية لأى عائل حشرى معين من خلال انجذابها لمكونات شائعة للبيئة التى توجد فيها (مثل ثانى أكسيد الكربون، البكتريا السالبة لجرام وبعض الايونات). لذلك بمكن القول أنه حتى مع الظروف النموذجية التى يتم توفيرها فى المعمل فان أى نوع نيماتودا لا يكون ذات قدرات متساوية على العدوى مع كل الانواع الحشرية والاطوار الخاصة بكل نوع. الاختلافات فى حساسية الانواع والاطوار الحشرية قد ترجع الى عدد من العوامل. النيماتودا مقيدة لعزل العوائل الخاصة. خلال الفتحات الطبيعية (الم- الشرج- الثغور التنفسية) للنيماتودا *Heterorhabdiis* يكون عن طريق الكيوتيكل غير المغلظ. بالتبعية ان العدوى قد تنخفض من العوائل أو الاطوار الصغيرة جدا والتى فيها حماية للفتحات الطبيعية بواسطة الوسائل الطبيعية والسلوكية أو حيث يكون الكيوتيكل غير المغلظ غير معرض للنيماتودا. لا تستطيع النيماتودا الوصول ومن ثم تكون غير قادرة على احداث العدوى فى العذارى المكسوة أو المغطاة وربما فى حالة أطوار الراحة المكسوة بخلايا ترابية مضغوطة. وفى سياق عدم المقدرة فى منع دخول النيماتودا فان بعض الحشرات تكتسب بعض الحماية عن طريق استجابات المناعة. الحشرات الاجتماعية ذات استجابات سلوكية تقلل من تأثير النيماتودا على مجموع الحشرة.

كفاءة وفاعلية النيماتودا ضد بعض الانواع الحشرية الخاصة قد تنخفض بسبب الموطن البيئى الذى يحتمل بواسطة الحشرة. حساسية النيماتودا للجفاف والاشعة فوق البنفسجية ودرجة الحرارة العالية تحدد وتقيد بدرجة شديدة كفاءتها على السطوح المعرضة. المدى الحرارى الذى تتمكن أنواع النيماتودا *Steinernema* و*Heterorhabdiis* من احداث العدوى والتكاثر فى الحشرات يحدد كذلك كفاءتها وفاعليتها على الانواع الحشرية التى تحتمل البيئات الظليلة خلال الفترات التى تكون فيها الحرارة منشطة لنشاط النيماتودا.

ج- **الحشرات المستهدفة:** لقد أستخدمت النيماتودا *Steinernema* و *Heterohabditis* بنجاح فى مكافحة الثاقبات الضارة الحشرية. فى هذه التطبيقات فان النيماتودا التى أكتسبت مقدرة على الدخول فى الثقوب التى تحدثها الحشرة تكون محمية ضد الاشعة فوق البنفسجية والجفاف. حيث أن تلك الافراد التى تبقى على سطح النبات أو تنجرف

على سطح التربة تكون ممرضة لهذه العوامل. ان استخدام أنواع نيماتودا *Heterohabditis* يفيد كوسيلة تجارية فى مكافحة خنفساء العنب السوداء *Otiorrhynchus sulcatus* فى الصوب والمشاتل. فى هذه البيئة الصناعية توجد احتمالات مخاطر قليلة على اللافقاريات النافعة.

لو أن تعرض النيماتودا على الاسطح المعرضة يحدد من استخدامها ضد الحشرات التى تتغذى على المجموع الخضرى فانه توجد بعض الظروف التى تمكن من استخدامها. العديد من الانواع التى تتغذى على الاوراق تنزل الى التربة للتعذر ومن ثم يمكن أن تكافح بواسطة النيماتودا فى هذا الطور (مثل ثاقبة الخوخ *Carposina nipponensis*). فى حالة واحدة على الاقل يكون من الممكن مكافحة الانواع التى تتغذى على الاوراق بواسطة استخدام النيماتودا مباشرة على المجموع الخضرى. معاملة واحدة لنيماتودا *S. Feliae* على الكريزانثيم التالى فى بيوت محمية ظليلة توقف الضرر والتلف الذى تحدثه الدودة القارضة *S.exigua* التى تتغذى على المجموع الخضرى. العديد من الحشرات لها أطوار تعيش فى التربة ومن ثم تكون أهداف واضحة للنيماتودا الملتهمة للحشرات وهذا قد يؤثر بدرجة كبيرة على اللافقاريات غير المستهدفة *NTO's*.

د- التأثير على اللافقاريات غير المستهدفة:

١- الحشرات: الطفيليات والمفترسات وغيرها

أ- <u>أشباه الطفيليات *Parasitoids*:</u> فى التجارب المعملية تم عدوى أشباه الطفيليات الحشرية بواسطة أنواع النيماتودا *S.Heterorhabditis*. عندما تم عدوى عائل الدودة القارضة *H.exiguae* بالنيماتودا *S.carpocapsae* ٢٤ ساعة قبل خروج شبيه الطفيل لم يتحصل على أشباه الطفيليات البالغة. لقد تم عدوى أشباه الطفيليات من غشائية الاجنحة *G.militaris* و *H.exiguae* والتاكينيدى *C.concinnata* عند خروجها من العوائل للتعذر. *S.carpocapsae* التى تعدى *G.militaris* تلامس بوضوح أشباه الطفيليات بالصدفة أكثر منها عن طريق الجذب. على نفس المنوال فان أشباه الطفيليات فى التاكينيدى *Myxexorisops sp.* لذبابة القش *C.abietis* ليست جاذبة للنيماتودا *S.karussei* بينما أشباه الطفيليات تبقى داخل العائل الميت. لم يوجد دليل يشير الى العدوى بواسطة النيماتودا للتاكينيدى أو أشباه الطفيل

ايكونيوميد *C.abietis* فى الحقل. لم تحدث عدوى للطفيل ثنائى الاجنحة *S.myopaeformis* باستخدام النيماتودا *Steinernema* فى مكافحة عائله.

أظهرت التجارب المعملية كذلك أن التاكينيد البالغ حساس كذلك للنيماتودا كما فى حالة *M.minense* للنيماتودا *S.carpocapsae*. كذلك وجد أن بالغات *C.concinnata* حساسة كذلك للنيماتودا. النيماتودا قد تؤثر كذلك على أشباه الطفيليات الحشرية. عندما حدث تطفل لحشرة *M.unipuncta* فى الطور اليرقى بواسطة *G.militaris* وعرضت لشبيه الطفيل *S.carpocapsae* حتّى يومان قبل أن يخرج شبيه الطفيل من العائل مما يجعل أشباه الطفيليات غير قادرة على اكتمال التطور بسبب موت العائل. لقد أشار الباحث *Ishibashi* وأخرون (١٩٨٧) أن ٥٠% فقط من شبيه الطفيل المنبثق *T.apanteloctenus* من أبى دقيق الكرنب تعدى وتصاب بالنيماتودا *S.carpocapsoc* قبل أن يتعذر شبيه الطفيل. لقد وجدت قيود مشابهة على اكتمال التطور مع أشباه طفيليات التاكينيدى. النيماتودا ذات تأثير قليل على أطوار العذارى لأشباه الطفيليات. لقد كانت النيماتودا غير قادرة على اختراق الشرانق غير التالفة لأشباه الطفيليات من غشائية الاجنحة *C.medicaginis*. كانت تحدث عدوى فى عذارى *G.militaris* فقط فى حالة ما اذا كانت النيماتودا على أو فى الحشرة قبل أن يستكمل شبيه الطفيل تكوين الشرنقة.

ب- <u>المفترسات *Predators*:</u> فى الدراسات المعملية كانت تحدث عدوى فى مناسبات لمفترسات ثنائية الاجنحة *C.abietis* وتقتل بواسطة النيماتودا *S.krausspi*. لم يتمكن بعض الباحثين من اثبات حدوث أى عدوى للمفترسات فى الحقل. عندما تتغذى المفترس من نصفية الاجنحة *A.dohrni* على *M.neusri* بعد ٢٤ ساعة من العدوى بالنيماتودا *S.carpocapsae* ثم عدوى ٢٠% من المفترسات. هذا المعدل من العدوى ربما تتحقق بواسطة تركيز الطور المعدى من النيماتودا فى وجود عائل حرشفية الاجنحة مما يعرض المفترس لجرعة صناعية عالية.

جـ- <u>حشرات أخرى:</u> أظهرت الاختبارات المعملية أن اليرقات والافراد البالغة من نحل العسل حساسة للنيماتودا. لقد وجد الباحث *Kaya* وأخرون (١٩٨٢) أن رش النيماتودا مباشرة فى خلايا النحل تسبب بعض الوفيات فى اليوم الثالث بعد الرش ولكنها لم تؤثر عكسيا على مستعمرة النحل. الحرارة والرطوبة المنخفضة فى الخلية لم تحفز بشكل واضح عدوى وتطور النيماتودا. ولو أن الرش المباشر للنيماتودا على شغالات النحل أدى الى حدوث اصابة بمقدار ٤- ١٠% فقط فان *Kaya* وأخرون

(١٩٨٢) أوصوا بأن تطبيق هذه المعاملة بالنيمانودا يجب أن يتم والنحل فى وضع عدم السرحان. عندما تم رش النيماتودا على التفاح والكمثرى لمكافحة الثاقبات من الفراشة *Zeuzera pyrina* لم يحدث تأثير واضح على الذباب أو الدبابير أو النحل فى البيئة. استخدام النيماتودا *S.carpolapsae* شهريا (٥٠٠ سم٢) على الارض لمدة ٦ شهور أدت الى تباين كبير فى مستوى الكولومبولا (كذلك الاكاروسات ومفصليات الارجل الاخرى) بعد وقت قصير من المعاملة ولكن التأثيرات لم تدوم فى مجموع الافات.

٢- **مفصليات الارجل الاخرى:** لم يوجد ما يشير الى حدوث عدوى طبيعية بواسطة النيماتودا *Heterohabdiis* ، *Steinernematid* فى العوائل غير الحشرية. هذا ولو أن العناكب وعمال الحصاد والعقارب الكاذبة تم عدواها عندما تعرضت لتركيزات عالية جدا (أكثر من ١٠٠٠ سم$^{-٢}$) من هذه النيماتودا على ورق التشريح. على العكس فان استخدام النيماتودا فى التربة من تلك التى تحدث مستويات عالية من الموت فى الخنافس والسوس من النوع *Otiorrhynchus spp.* لم تقتل العناكب أو ذات القدميات كما أن تكرار معملة التربة بالنيماتودا *S.carpocapsae* لم تطيل التأثير على مجاميع *Myriapod* (عديدات الارجل). للأكاروس المفترس الذى يتغذى على الطور المعدى للنيماتودا وجد أن ستة معاملات من النيماتودا فى التربة على فترات شهرية لم تحدث تأثيرات طويلة المدى على مجاميع الاكاروسات.

٣- **اللافقاريات الاخرى:** استخدام جرعات عالية من النيماتودا *S.glaseri* أثرت عكسيا على نيماتودا تعقد الجذور فى الأرض *Meliodogynejarueica*. لو أن اضافة النيماتودا الى التربة أدت الى خفض ابتدائى فى مجاميع النيماتودا المتوطنة الا أن هذه المجاميع شفيت أو زادت عن المستويات الاصلية خلال أسابيع قليلة. كثافة الأنواع المتطفلة على النباتات انخفضت لاسابيع قليلة عام ١٩٨٤ ولكنها لم تحدث كذلك فى تجارب ١٩٨٥. لم تتأثر ديدان الارض بواسطة النيماتودا حيث كانت النيماتودا قادرة على التكاثر فى ديدان الارض الميتة ولكنها كانت غير قادرة على قتل النيماتودا السليمة ولم تزيد نسب الموت للديدان النافعة.

REFERENCES

Taylor, K. L.. The introduction and establishment of insect parasitoids to control Sirex noctilio in Australia, Entomophaga, 21, 429, 1976.

Bedding, R. A., Parasitic and free-living cycles in entomogenous nematodes of the genus Deladenus, Nature, 214, 174, 1967.

Bedding, R. A.. Biology of Deladenus siricidicola (Neotylenchidae) an entomophagous-mycetophagous nematode parasitic in siricid woodoasps. Nematologica, 18, 482, 1972.

Bedding, R. A. and Akhurst, R. J., Geographical distribution and host preferences of Deladenus species (Nematoda: Neoylenchidae) Parasitic in siricid woodwasps and associated hymenopterous parasites, Nematologica, 24, 286, 1978.

Kaya, H. K. and Hochkin, P. G., The nematode Neoaplectana carpocapsae Weiser and is effect on selected ichneumonid and parasites, Exp. Entomol., 10, 474, 1981.

Welchm H. E. and Bronskill, J. F., Parasiism of mosquito larvae by the nematode, DD 136, Can. J. Zool., 40, 1263, 1962.

Schmiege, D. C., The feasibility of using a neoaplectanid nematode for conrol of some forest insect pests, J. Econ. Entomol., 56, 427, 1963.

Miller, L. A. and Bedding, R. A., Field testing of the insect parasitic nematode, Neoaplectana bibionis (Nematoda: Steinernematidae) against currant borer moth, Synanthedon tipuliformis (Lep.: Sesiidae) in blackcurrants, Entomophaga, 27, 109, 1982.

Begley, J. W., Control of foliar feeding lepidopterous pests with entomophagous nematodes, 20th Annu. Meeting, Soc. Invertebr. Pathol., Gainesville, FL, 1987, 65.

Kaya, H. K., Infecivity of Neoaplectana carpocapsae and Heterorhabditis heliothidis to Pupae of the parasite Apanteles miliaris, J. Nematol., 10, 241, 1978.

Ishibashi, N.. Fah-zu Young, Nakashima, M., Abiru, C., and Haraguchi, N., Effects of application of DD-136 on silkworm, Bimbyx mori, a predatory insect, Agriosphodorus dohrni, a parasioid Trichomalus apanteloctenus,

soil mites and other non-target soil arthropodsm with brief notes on feeding behaviour and predatory pressure of soil mites, tradigardes, and predatory nematodes in japan, Report to Ministry Advances in Biological Control of Insect Pests by Entomogenous Nemaodes in Japan. Report to Ministry of Educationm Culture and Sciencs, Japan, 1987, 158.

Kaya, H. K., Marston, J. M., Lindegren, J. E., and Peng, Y. S., Low susceptibility of the honey bee, Apis mellifera L. (Hymenoptera: Apidae) to the entomogenous nematode, Neoaplectana carpocapsae Weiser, Environ. Entomol., 11, 920, 1982.

Ishibashi, N. and Knodo, E., Steinernema feliae (DD-136) and S.glaseri: persistence in soil and bark compost and their influence on native nematodes, J. Nematol., 18, 310, 1986.

Li, P., Den, C., Zhang, S., and Yang, H., Laboraory studies on the infectivity of the nematode Steinernema glaseri to Oncomelania hupensis, a snail intermediate of blood fluke, Schisosoma japonicum, Chin. J. Biol. Control, 2, 1986.

الباب السادس

المخاطر البيئية للممرضات الحشرية والكائنات الدقيقة والنباتات المهندسة وراثيا بين التشريع والامان الحيوى

أولا: الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا

ثانيا: النباتات المهندسة وراثيا

ثالثا: الأمان الحيوى فى مصر بين التشريع والتطبيق

رابعا: المخاطر البيئية للممرضات الحشرية المهندسة وراثيا

خامسا: استخدام التكنولوجيا الحيوية فى مكافحة الآفات باستخدام مستحضرات باسيلليس ثورينجينسيز

سادسا: التقانات المستخدمه فى انتاج المركبات الحيوية البكتيرية

سابعا: دراسات عن التأثيرات الحيوية والهيماتولوجية والجزيئية لبعض المبيدات الحيوية على حيوانات التجارب.

أولا: الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا

التقدم المذهل الذى حدث فى طرق وتقنيات البيولوجيا الجزيئية على امتداد الحقبتان الزمنيتان الأخيرتان أدى الى الحصول على كائنات دقيقة محورة وراثيا *(GMMs)* تتضمن الفيروسات والبكتريا والكائنات الدقيقة واستخدامها على النطاق التجارى فى الاوساط المحتوية عليها أو لنشرها عن قصد فى البيئة. توجد استخدامات مباشرة للكائنات *GMMs* فى البيئة مثل حماية المزروعات (*Lindow* وأخرون، ١٩٨٣، *Blakeman Fokkema &* ١٩٨٢). والمكافحة الحيوية (*Bishop* وأخرون ، ١٩٨٨) والانهيار الحيوى (الانهيار للمخلفات الكيميئية) واستخلاص المعادن من الخام (*Lindow* وأخرون ١٩٨٦،). على نفس المنوال تم تطوير نباتات مهندسة وراثيا للاستخدامات الزراعية. نشر الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا *GMMs* يختلف فى الاساس عن الحالات الاخرى لأنه من الصعوبة بمكان تقدير التأثيرات البيئية بسبب المشاكل المتأصلة فى استكشاف الكائنات الدقيقة فى البيئة وتقويم تداخلاتها مع الاحياء فى التربة والماء. بالطبع ولن نخرج عن الحقيقة فى أنه اذا أمكن تمييز الاضرار التى لم تكن مرئية أو متوقعة بعد نشر الكائنات *GMMs* سوف تجابه موقف فى غاية الخطورة حيث قد يكون من المستحيل إدخال أية عمليات لمجابهة الموقف ولو أن هذا قد يكون أحد الخيارات لإعادة الوضع على ما كان علية خاصة فى حالة النباتات أو الحيوانات المهندسة وراثيا ولو أن نشر الدنا المندمج خلال حبوب اللقاح من النباتات المتحولة قد يخلق نفس الصعوبات. الاختلافات الاساسية ذات أهمية خاصة فى وضع الدلائل الخاصة بنشر وتداول وتسجيل *GMMs* مر قبل الوكالات التشريعية المسئولة عن اعطاء التراخيص.

لكى يمكن تقييم مخاطر نشر الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا فى البيئة نحتاج للحصول على إجابات دقيقة وعقلانية عن تساؤلات خاصة بايكولوجية الكائنات الدقيقة فى البيئة. نود معرفة أى العوامل تؤثر على نمو وبقاء ونشاط حركة هذه الكائنات خلال مكونات البيئة. من الضرورى كذلك توفر معلومات عن التأثيرات التى تحدث من جراء نشر كائنات *GMMs* على الاحياء الموجودة فى الوسط حيث تراكيب المجموع والمجتمعات وثبات "الدنا المندمج" وانتقاله الى الأحياء المستوطنة. لكى نجيب على هذه الاسئلة يجب أن يكون لدينا المقدرة على الكشف والتقدير الكمى لتركيزات الكائنات *GMMs* الكلية والحيوية المزروعة وغير المزروعة لقياس نشاطها الفعلى وتحديد

مستوى الدنا المندمج والتعبير عنه فى الكائنات المتوطنة. مفتاح الحصول على هذه المعلومات يتمثل فى تطوير الطرق التى تسمح بالكشف عن *GMMs* المزروعة فى البيئة. لذلك تضافرت جهود العديد من الهيئات الدولية فى تطوير تكنولوجيا تمكن من الكشف وتقييم مخاطر الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا التى نشرت فى البيئة. من أفضل هذه الطرق النظام البريطانى الاساسى الخاص بما يختصر الى *PROSAMo* (برمجة نشر الكائنات الحية المنتجة والمحورة *Programmed Release of Selected and modified organisms*) والذى يدعم من قبل الحكومة البريطانية والمراكز البحثية والشركات الكبرى التى تضطلع بتنشيط البحوث الخاصة بتقييم المخاطر والكشف عن أضرار البكتريا المهندسة وراثيا وكذلك النباتات (*Killham* ١٩٩٢). نتائج هذه التجارب وغيرها من البحوث المماثلة قد ساهمت بشكل كبير فى وضع دلائل فعالة عن استخدام الكائنات الدقيقة والحية فى البيئة.

١- استعراض شامل عن الكائنات الدقيقة والتكنولوجيا الحيوية

الكائنات الدقيقة مخلوقات حية متناهية فى الصغر تشمل البكتريا والفطريات والفيروسات والاولويات الحيوانية. الفيروسات والبكتريا لها أشكال متعددة وتسبب أمراض النبات والحيوان والانسان. من البكتريا ما هو نافع كتلك التى تثبت أزوت الهواء الجوى وتستخدم فى صناعة الالبان ودبغ الجلود وصناعة السماد العضوى واللقاحات المختلفة والأمصال. البكتريا هى حجر الزاوية فى تقدم وتطور التكنولوجيا الحيوية لدرجة أنه يطلق عليه: الثورة العلمية الرابعة للقرن العشرين أو ما يحلو للبعض أن يسميها بثورة الهندسة الوراثية. الفطريات بعضها يستخدم كغذاء مثل عيش الغراب وبعضها يدخل فى صناعات متعددة مثل الخميرة وإنتاج المضادات الحيوية والكثير من الفطريات ضار للنباتات والانسان وبعضها يفرز سموم ضارة بالانسان والحيوان. الاوليات الحيوانية سواء فى التربة أو المياه العذبة والمالحة تسبب أمراض للانسان والنبات والحيوان ومن أشهرها بلازموديوم الملاريا. لسنا فى حاجة للقول والتذكرة بالأعداد المهولة للكائنات الدقيقة وتنوعها الرهيب ودورها الكبير فى احداث التوازن البيئى. لقد ساهمت الكائنات الدقيقة فى التوصل الى العديد من الاكتشافات والانجازات مثل:

- التأكيد على أن المادة الوراثية فى الكائنات الحية هى الحمض النووى *DNA* وليس البروتين.

- اكتشاف الانزيم القاطع.
- استخدام البلازميد فى البكتريا فى عمل أو تركيب حمض نووى.
- إكثار الحمض النووى المعاد تركيبة وعمل ملايين النسخ.
- وسيلة لنقل الحمض النووى.
- المصدر الرئيسى للحصول على أنزيمات الوصل أو الالتحام.
- الحصول على انزيمات لدراسة تتابعات وترتيب القواعد النتروجينية على شريط الدنا.
- الحصول على الانزيمات اللازمة لتصنيع الحمض النووى.
- الحصول على الجينات الخاصة بمقاومة الحشرات والفيروسات والمبيدات.
- نستخدم كمفاعل حيوى لتصنيع الهرمونات.
- تستعمل كمبيد حيوى.
- تستخدم فى تحويل المخلفات الزراعية.
- وسيلة لجعل النبات مصنع لإنتاج اللقاحات..... وغيرها من الاستخدامات التى كانت فى مصاف الأحلام فى الحقبة الماضية .... أليس كل هذا ثورة رابعة بعد ثورات ثلاثة (تحطيم الذرة – ارتياد الفضاء – عالم الكمبيوتر ...).

مرة أخرى أشير الى دور الكائنات الدقيقة فى إنتاج الغذاء الطبيعى (الصبغات ومواد النكهة – مركبات حلوة قليلة السعرات) من خلال التخمير. هل يعلم الكثيرين أن الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا تستخدم للكشف عن فساد الأغذية من خلال عزل قطعة صغيرة من الحمض النووى للكائن المسبب للفساد واستخدامها كمجس للكشف عنه (كما هو الحال فى الكشف عن السالمونيلا). لقد حدث تقدم كبير فى هذا الاتجاه من خلال استغلال البلازميد (قطعة الحمض النووى فى البكتريا وعليه بعض الجينات ذات الخصائص المعنية وبذلك أصبح فى الإمكان التعرف على أى جين مرغوب. قيمة كل كائن تتحدد بمحتواه من الجينات المرغوبة وبذلك فان التنوع البيولوجي واجب الحفاظ عليه بهدف الحصول منه على الصفات المرغوبة وتحسين الصفات الوراثية للكائنات الحية خاصة الدقيقة. تكنولوجيا الحمض النووى المندمج أو .المعاد تركيبه *rDNA* تعتبر من أهم الوسائل للحصول على كائنات دقيقة تؤدى وظائف معينة. نحن نتوق لبنك التقاوى على مستوى العالم العربى وفى نفس الوقت نتوق أكثر لبنك للجينات فى السلالات النباتية والحيوانية مع توصيف صفات كل سلالة ولتصبح الجينات قوة

استراتيجية على مستوى العالم العربى فنحن لسنا أقل مقدرة من العالم المتقدم. يمكن الاستفادة من هذه البنوك الجينية من خلال تقنية الحامض النووى المعاد تركيبه الى التحكم فى النمو والبناء والتطور وتحويل الجينات وما يستتبع ذلك من قفزات هائلة فى الطب والزراعة والصيدلة. أليس فى الامكان نقل جين من كائن دقيق كالبكتريا الى الحيوان أو النبات ... سبحانك يا قادر لا علم لنا الا ما علمتنا ... .

قد يقول قائل وماذا فى هذا التوجه بعمل بنك للجينات على مستوى العالم العربى؟ هل فى هذا صعوبة؟ ألسنا نملك قاعدة علمية جيدة وإمكانيات هائلة؟ الاجابة نعم ولا غرابة ولكن ليكن معلوما أن مزارع الكائنات الدقيقة ذات الصفات المرغوبة والجينات المتميزة التى تصلح للأبحاث وتطبيقات التكنولوجيا الحيوية يجب أن تحفظ فى نتروجين سائل على درجة حرارة -١٩٦°م. لذلك فان حفظ المعلومات الوراثية مكلف للغاية ومع هذا فهو ممكن وضرورى وحتمى.

للكائنات الدقيقة دور كبير سوف يتعاظم فى القرن الحالى فى تصنيع المواد الغذائية الثانوية مع مضافات الغذاء للحفظ من التلف والمواد التى تعطى المذاق الحلو أو تلك التى تحسن الطعم والروائح والعطور مثل رائحة الخوخ والتفاح والنعناع والبرتقال... أى أن كل ما سنأكله فى المستقبل القريب والأن سيكون ناتجا من الكائنات الدقيقة وليس من طريقة زراعة الخلية. هناك بروتين الثوماتين الذى يوجد فى ثمار نبات كاتميف فى غرب ووسط أفريقيا وهو ذو حلاوة ١٠٠٠- ٣٠٠٠ مرة حلاوة السكر وقد نقل الجين الخاص بانتاج هذا البروتين من النبات الى البكتريا ثم نقل لنبات الدخان والخميرة... كل شئ أصبح ممكنا بفيض من الخالق العظيم...

عن دور الكائنات الدقيقة فى حماية البيئة من التلوث حدث ولا حرج. هذا الاقتراب يوفر الطاقة والجهد والتكاليف. هذا المجال فى حاجة الى تطوير لأنه ليس كما يظن الكثيرين يمكن تحقيق التخلص من الملوثات بوضع الكائنات الدقيقة مع الملوث وانتهى الامر. الأمر معقد بل فى غاية التعقيد لأن هناك ثلاثة اقترابات فى هذا المجال هى: القطع الى أشرطة عن طريق التهوية أو تحويلها الى معادن وانتاج غاز ثانى أكسيد الكربون أو الميثان فى النظم اللاهوائية، ادمصاص المعادن على مواد ادمصاصية ثم التخلص والإزالة، التحويل الحيوى بالكائنات الدقيقة*Biotransformation* وهو بيت القصيد. الهدف من التحول الحيوى بالكائنات الدقيقة تحويل الملوثات الكيميائية الى معادن وثانى أكسيد الكربون بمسارات معينة سوف نعلم بعضها ولكن الكثير من هذه المسارات سيظل فى علم الغيب لا يعلمها الا الخالق العظيم. الوصول الى هذا الهدف

يتطلب معرفة شاملة وكاملة عن الكائنات الدقيقة وطبيعتها والتوازن والتداخلات فيما بينها حيث التنوع البيولوجي موجود ومحدد. اذا لم تعرف كل مخرجات ونواتج عملية التحول الحيوى يمكن الحصول على نتائج عكسية حيث أن بعض النواتج خاصة المعادن قد تكون هى الاخرى ملوثة ضارة بل أشد ضررا من الملوثات الاصلية. لقد ساهمت الكائنات الدقيقة من خلال تكنولوجيا التحول الحيوى فى تخليص مياه الكويت من بقعة الزيت الرهيب... ولكن ماذا حدث بعد ذلك؟ كتمان فى كتمان... أه من غولاء المركبات الايدروكربونية خاصة تلك التى تحتوى على الهالوجيات اذا لم تتحول حيويا بصورة أمنة؟ يمكن استخدام التحول الحيوى فى تخليص المياه الجوفية والتربة والمياه السطحية من الملوثات الكيميائية. ياسادة لا تتسابقوا نحو استيراد السلالات الخاصة بهذه الكائنات الدقيقة من الخارج... أرضنا غنية جدا بكل هذه الكائنات التى تأكل الملوثات أكلا وتخلصنا من هذا الشر الفظيع من أيدينا.

من الصدف العجيبة أنه فى طريقى لمكتب شركة سوميتومو كيميكل حيث أعمل مستشارا علميا لها تناولت إذاعة البى بى سى فى لندن الموجهة بالعربية موضوع الملوثات البيئية وعلاقتها بنقص المناعة فى الانسان وأشارت الى أنه سيعقد فى ٣ ديسمبر ٢٠٠٠ مؤتمر فى جوهانسبرج بجنوب أفريقيا لمناقشة هذا الموضوع الخطير يحضره ممثلون عن العديد من الدول والهيئات والمنظمات المعنية بهذا الموضوع. لقد كان ذلك متواكبا مع الكتاب الذى أصدرته منذ سنتان عن المبيدات والكيميائيات ودورها فى الانقلاب الجنسى وفقد المناعة من إصدار شركة كانزا جروب للطبع والنشر فى جمهورية مصر العربية. تناولت النشرة الانجليزية الاشارة الى بعض المركبات الكلورونية خاصة الددت والدداى وقالت أنه تأكد أن النساء اللاتى يرضعن أطفالهن رضاعة طبيعية ينقلون اليهم المبيد خلال اللبن. هذا الوضع المتردى كان من أحد الاسباب التى أدت الى الاهتمام بسلامة الاطفال والرضع من خلال تناولهم ألبان الامهات اللاتى تعرضن للمبيدات. من هذا المنطلق شدد قانون حماية جودة الغذاء *FQPA* على هذا الموضوع وأضاف الى متطلبات تقويم المخاطر *Risk assessement* التعرض الرحمى للأجنة وضرورة اجراء اختبارات الكشف عن مستوى الاستروجين لمعرفة علاقتها بالملوثات حيث أنها ترتبط بحدوث انقلاب فى الجنس ونقص المناعة. لقد تأكد أن هناك سلالات من بكتريا بسيدوموناس ذات مقدرة على القيام بالتحلل الحيوى لملوثات مسرطنة مثل *PCP* وكذلك *PAH* (أيدروكربونات عطرية عديدة الحلقات).

الشئ بالشئ يذكر حيث تستوطن التربة عديد من الكائنات الدقيقة الضارة بالنباتات من فطريات وبكتريا وغيرها وتسبب أضرارا فظيعة فى الانبات واستقامة النباتات فها هى أمراض الشلل والذبول وخناق البادرات وعفن الجذور والتى تكافح بالمبيدات بشراهة مما أدى الى تفاقم مشكلة تلوث التربة ومياه الصرف والمياه الجوفية والمزروعات بهذه السموم الخطيرة. بالاضافة الى ذلك فلا يمكن أن ننكر ما أحدثته هذه المبيدات من خلل فى التوازن الطبيعى بين الكائنات النافعة وبعضها البعض أو الضارة وبعضها البعض أو الضار والنافع معا وما يستتبع ذلك من خفض الخصوبة وظهور مشاكل أخرى قد تكون أكثر تعقيدا. سبحانك يا رب خلقت الداء وخلقت له الدواء وكل بمقدار وميزان دقيق. هذه الكائنات الضارة فى التربة لها أعداء طبيعية قد تكون من نفس الجنس أو النوع. لذلك فان التعرف على هذه الاعداء النافعة يفتح مجالا كبيرا للمكافحة المستنيرة والنظيفة وياحبذا لو تدخلت الهندسة الوراثية فى تعظيم شراسة هذه الاعداء النافعة فى القضاء على الآفات ولكن يجب أن يحدث ذلك بحساب ومقدار وحتى لا نحل مشكلة ونخلق مشاكل أخرى نحن فى غنى عنها. لقد نجحت الهندسة الوراثية فى دمج البروتوبلاست الخاص بأكثر من كائن نافع فى كائن واحد (فطر مثلا) ليؤدى أغراض متعددة فى منظومة حماية النباتات والسيطرة على الآفات. هناك مجال اخر للهندسة الوراثية يتمثل فى تعريف الجينات المسئولة عن مقاومة الافات لفعل المبيدات والتخلص منها وخلق سلالات حساسة.

لقد كثر الكلام عن خطورة الكائنات الدقيقة المحولة بالهندسة الوراثية وأثيرت تساؤلات عديدة عن تأثيراتها البيئية وظهرت اراء واجتهادات كبيرة بعضها يثير التشاؤم أكثر من التفاؤل وهذه ظاهرة صحية خاصة مع تكنولوجيات خاصة قد تحمل فى ظاهرها الرحمة بينما تحمل فى باطنها العذاب كما حدث مع المبيدات والسموم الأخرى. من المخاوف التى أثيرت وما زالت أن استعمال الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا قد يؤدى الى التعبير عن صفات غير موجودة فى الآباء وهذه قد تكون غير مرغوبة كما أن هناك احتمالات لنقل هذه الصفات الوراثية للكائنات الأصلية الموجودة فى البيئة أما الاحتمال الخطير هو أن هذه الصفات الجديدة قد تسئ الى البيئة مما قد يضر بصحة الانسان. الدراسات الخاصة بنقل المعلومات الوراثية بين البكتريا بصرف النظر عن الطريقة التى أتبعت (الارتباط – والنسخ والتحويل...). أما الدراسات الخاصة بسلوك الكائنات المهندسة وراثيا فى البيئة الأصلية ما زالت قليلة للغاية. لا يمكن إنكار احتمال حدوث تبادل للمعلومات بنسبة كبيرة بين البكتريا من نوع واحد

وفى عائل واحد كما هو الحال مع العقد الجذرية فى جذور البرسيم وقد يحدث نفس الشئ بين الأنواع المختلفة كما هو الحال بين الريزوبيا والبسيدوموناس وهذا يتوقف على وجود بلازميد ذات مجال عوائلى واسع.

السؤال الآن عن ماهية وحقيقة الأمان الحيوى للانزيمات الناتجة بالهندسة الوراثية؟ هناك توقعات عديدة تشير الى أن أكثر من ٨٠% من الانزيمات التى تنتج بحلول عام ٢٠٠٠ ستكون بواسطة البكتريا المحسنة وراثيا. هذه الانزيمات تشمل الأميليز والبروتييز والليبيز وغيرها. الأنزيمات نواتج طبيعية صديقة للبيئة ذات أمان عالى. صناعة الأنزيمات بالطرق الحيوية ومن خلال تقنيات الهندسة الوراثية وتكنولوجيا الحمض النووى المعاد تركيبه *rDNA* أصبحت فى المرتبة الثانية بعد صناعة الدواء. لقد ثبت أن هذه الكائنات المحورة وراثيا لا تشكل خطورة على الانسان والحيوان ولا تلوث البيئة. مع هذا فقد أشارت الوكالات المعنية بالأمان الحيوى الى ضرورة الاحتياط والحذر. ها هى وكالة حماية البيئة الأمريكية اضطلعت بمراجعة كل الطلبات التى قدمت اليها سواء بغرض الاختبار والتجريب أو بغرض التسجيل للكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا خاصة تلك التى تستخدم فى مكافحة الآفات الضارة. لقد تم حتى الآن تسجيل ما يزيد عن ٣٠ مركب حيوى كمبيدات امنه وكما أكرر دائما أن الأمان نسبى وليس مطلق. نفس النهج إتبع مع الكائنات المهندسة وراثيا فى صناعة الأسمدة أو حماية البيئة الحيوية. بالطبع لا تغفل هذه الوكالات البعد الاقتصادى والاجتماعى لإدخال هذه المنتجات من التكنولوجيا الحيوية والهندسة الوراثية. تشترط وكالة حماية البيئة الأمريكية أن يتضمن طلب اختبار أو التصريح باستخدام الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا بيانات عن الكائن الدقيق والسبل التى أتبعت فى تحسين ومكان الاختبار والبيئة المحيطة بالمكان وتعميم التجربة وكيفية إدخال الكائن الدقيق فى البيئة والميزة الاختيارية للكائن الدقيق وحركة الجين. تجدر الإشارة الى وجود قواعد وتشريعات تتضمن أسس تجميع وتحقيق وحفظ وتوزيع وإدارة مزارع الكائنات الدقيقة والحمض النووى المعاد تركيبه. كل هذا من الأمور الهامة والتى تلعب دورا رئيسيا فى الحصول على المعلومات الوراثية اللازمة لتقدم التكنولوجيا والعلوم.

من الاسهامات الايجابية لاستخدامات الكائنات الدقيقة المحسنة وراثيا إنتاج لقاحات لأمراض الحيوان والانسان داخل النبات باستخدام الكائنات الدقيقة حيث تستخدم بعض الفيروسات النباتية والتى تحمل تعاقب غريب من الببتيدات على غلافها بمثابة حامل للأنتيجين. يتم وضع الأوليجوببتيد المصنع والمبرمج للأنتيجين الغريب داخل

الغلاف البروتيني للفيروس. لقد اتبعت هذه الطريقة في فيروس تبرقش نبات اللوبيا لإنتاج مصل الحمى القلاعية والحصول على بروتين من نبات اللوبيا تفاعل الانتيسيرم الخاص بالحمى القلاعية. ما أذهلني حقا استخدام فيروس تبرقش الدخان ليعبر عن الأنتيجين الخاص بطفيل الملاريا والآن يوجد فيروس تبرقش الدخان يحتوى غلافة البروتين المعاد تركيبه على الأنتيجين الخاص بالملاريا. كذلك تم عزل بروتين من لعاب البعوضة هو الذى ينقل مسبب المرض. يجرى العمل الآن على تحفيز لقاح يهاجم الأطوار الخاصة بالطفيل التي تحدث في تيار الدم. ان إنتاج اللقاحات في النباتات ضد الامراض الوبائية يعتبر من الأمور الهامة للدول النامية بسبب توفر النباتات وقلة التكلفة. نتمنى أن نرى في القريب العاجل مصل لالتهاب الكبد الوبائي من نباتات للقضاء على مأساة ما يقرب من ٣٠٠ مليون نسمة على مستوى العالم.

توجد الآن مستحضرات تجارية تعتمد على جين مأخوذ من بكتريا الباسيلليس مثال مبيد فويل لمقاومة خنساء الكلورادو وثاقبات الذرة على البطاطس كما يستخدم الغلاف البروتيني للفيروسات *(VCP)* لإنتاج نباتات مقاومة لأكثر من فيروس. الآن توجد نباتات تقاوم ٢٢ نوع من الفيروس.

٢- النواحي البيئية والتشريعية التي تحكم نشر الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا:

من المنظور العام قامت السلطات المسئولة عن التشريعات على مستوى العالم وضع وتطوير اقتراب ما يسمى الحالة بالحالة *Case- by- Case* لكل استخدام حيث يجب الحصول على تصريح مسبق بنشر هذه الكائنات الدقيقة ولو أن التشريعات تبقى مختلفة من بلد لأخرى. اعتبارات الأمان الأساسية تختلف عن تلك الموجودة فعلا للتعامل مع غيرها حيث أن الكائنات المحورة وراثيا ذات طبيعة خاصة جدا كما أن هناك تحدى يتمثل في أن نشر هذه الكائنات يجب أن يصمم بحيث يحقق لها البقاء في البيئة. لقد عقدت العديد من اللقاءات والمؤتمرات الدولية حول نشر هذه الكائنات تحت مسمى نشر الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا *REGEM* (*Sussman* واخرون، ١٩٨٨) وعقد المؤتمر الثاني عام ١٩٩١ (*Stewart – Tull and Sussman*، ١٩٩٢) بالإضافة الى عدد من البرامج البحثية تحت مظلة البيوتكنولوجيا وتقييم المخاطر قبل برنامج التكنولوجيا الحيوية في الدول الأوربية *BAP* (*Economidis* ، ١٩٩٠) وكذلك مبادرة *PROSAMO* (*Killham*، ١٩٩٢). السبب في ضرورة وضع هذه التشريعات يتمثل في أن العلماء غير قادرين على التنبؤ بما قد يحدثه نشر تجارب الكائنات الدقيقة المهندسة

وراثيا وكذلك اعتقاد عامة الناس بأن نشر *GMMs* قد يسبب مخاطر على المدى الطويل على كل من البيئة والصحة العامة (*Kemp*، ١٩٩٢). فى انجلترا(*Steele*، ١٩٩٣) وفى أمريكا (*Sharn* وأخرون،١٩٩٢ب) حدث تطوير وتبسيط على التشريعات المنظمة نشر هذه التكنولوجيا فى البيئة خاصة نشر الكائنات الدقيقة المحورة وراثيا *GMMs*.

التشريعات الجارية فى المملكة المتحدة

فى انجلترا وقبل نشر أى كائن دقيق مهندس وراثيا يجب الحصول على تصريح من وزارة البيئة الإنجليزية. فى الناحية العملية تستقبل وزارة البيئة الانجليزية توصيات ونصائح من العديد من اللجان المستقلة خاصة لجنة النشر للبيئة *(ACRE)* والتى تضم فى تشكيلها خبراء وممثلين من مختلف التخصصات مثل مجاميع الشئون الصحية والبيئة. قسم شئون البيئة *(DOE)* الآن هو المسئول عن التنسيق بين اعتبارات كل تطبيقات الكائنات المهندسة وراثيا وغيرها حيث أن هذا القسم هو الذى يعطى التراخيص بالتعاون والتنسيق مع الهيئات الحكومية الأخرى مثل إدارة الصحة والأمان *(HSE)* ووزارة الزراعة والثروة السمكية والغذاء *(MAFF)* ولجنة السوق الأوربية. الهدف الأساسى على المدى الطويل يتمثل فى وضع الدلائل العامة والتشريعات الخاصة بالنشر خلال الدول الاوربية. هذا يعتبرتقدم عقلانى حيث أن الكائنات الدقيقة لا تعترف بوجود حواجز فيما بينها خلال تجارب النشر كما أنها ذات فوائد واضحة للنشر التجارى بواسطة الشركات الأوربية.

طلب التصريح بتجريب أو نشر هذه الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا يقدم على استمارة موحدة متفق عليها وعلى الطالب أن يقدم كل المعلومات حول الكائن الحى المطلوب نشره وكذلك "الدنا" المندمج والتى سوف تستخدم بتباين تبعا للخطر المرتبط بالنشر والغرض منه. مثال ذلك لا يمكن التصريح بالنشر إذا كان الكائن المطلوب نشره هو الايشيريشياكولاى المهندسة وراثيا للتعبير عن توكسين ريسين *toxin ricin* (من النباتات) بسبب أن الريسين قاتل للإنسان وأنه سوف يمثل خطر غير مقبول على صحة الانسان. هذا سوف يتعارض مع النشر المقترح لسلالة الريزوبيوم المهندس وراثيا من خلال جزئ الدنا لبلازميد الريزوبيوم الطبيعى الذى يقاوم المضاد الحيوى. وجود المقاومة للمضاد الحيوى سوف تسمح للكائن المحور بالاستكشاف فى البيئة وجمع معلومات عن أيكولوجية البكتريا وكيف أنها ترتبط بمقدرتها على تثبيت نتروجين الهواء

الجوى. إن نشر مثل هذه الكائنات لن يسبب أضرار على البيئة أو صحة الانسان وهو يقدم معلومات أيكولوجية ذات قيمة كبيرة. إن الموافقة على طلب الحصول على موافقة بنشر هذه الكائنات المحورة وراثيا يجب أن يشكل توفر العديد من المعلومات عن صفات ومواصفات المانح وأبوية ومستقبلات الكائنات الحية والعلامات الجينية الفينولوجية وكيف يمكن تعريف الكائن وماذا عن حساسية طرق الكشف ومدى دخول واشتراك الكائن الحى فى العمليات البيئية مثل التغذية وتحلل المادة العضوية والتنفس. التشريعات الكاملة منشورة فى كتيب قسم الشئون البيئية *DOE* تحت عنوات "التشريعات و السيطرة على النشر العقلانى للكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا (*DOE* ، ١٩٩٣)".

التشريعات فى أستراليا

لقد وضعت دلائل تحدد نشر الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا *GMMs* على غرار ما هو متبع فى الدول الأخرى (التعديل الوراثى: التهديد والوميض؟ ١٩٩٢ فى أستراليا). فى هذا الاصدار الحكومى الاسترالى أخذت فى الاعتبار الفوائد المؤثرة لنشر *GMMs* فى البيئة. مثال ذلك أن هذا النشر سيكون له تأثيرات ايجابية على البيئة ووضع الاقتراح الأول عن سلالة البكتريا المحورة وراثيا والتى تثبت النتروجين "الريزوبيوم" وجعلها مقاومة للمبيد الفطرى. تأثير هذا كان يتمثل فى حماية هذه البكتريا المثبتة للنتروجين من الضرر بواسطة المبيد الفطرى عندما ترش النباتات بها لحمايتها من العدوى بفطريات الجذور. استخدام هذه البكتريا سوف ينقص الحاجة لدى مزارعى أستراليا لاستخدام المخصبات النتروجينية (التى سوف تؤدى الى وجود مستويات عالية من النتريت والنترات فى ماء الصرف وفى المراعى (*Friend* ، ١٩٩١).

التشريعات فى حد ذاتها تنفذ بطريقة مماثلة لما يجرى فى بريطانيا. مع كل طلب لنشر الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا *GMMs* يتطلب توفير كم هائل من المعلومات عن مبررات النشر وتوضيح أسباب ومبررات فشل الطرق الأخرى أو عدم كفاءتها (خاصة تلك التى لا تشترك فى النشر) وتفصيلات عن التحور الوراثى وثباته وكذلك التأثيرات المعروفة للكائن غير المهندس وراثيا ونفس الشئ عن الكائن المحور على الإنسان والحيوان وصحة النبات والإنتاج الزراعى. والبيئة والدلائل والأدلة الخاصة بالثبات والتيسير ونشر الكائن المحور وتفصيلات كاملة عن تجارب النشر وترتيبات الاستكشاف وما هى الخطط المتوقعة للتعامل مع الكوارث البيئية مثل الفيضان خلال النشر وطرق السيطرة للحد من الكائن بعد النشر. مطلوب معلومات

إضافية أخرى اعتمادا على طبيعة الكائن المحور وراثيا والاستخدام النهائى له. هناك مراتب خاصة مثل الفاكسينات الحية والكائنات الدقيقة المرتبطة بالنباتات وتلك المرتبطة بالحيوان (مثل المجترات) والتى تستخدم فى القضاء على التلوث والمقاومة الحيوية والكائنات الدقيقة التى تستخدم مع الغذاء. مع كل مرتبة من هذه المراتب يكون على المتقدم للحصول على الموافقة والترخيص بالنشر أن يجيب على ٢٣ سؤال مع ٢- ١٣ سؤال إضافى اعتمادا على المرتبة التى يتبعها الكائن محل الاعتبار. فى هذه المرحلة يؤخذ المقترح فى الاعتبار فى المعاهد المعنية بالأمان الحيوى واللجنة الخاصة به *(IBC)* والتى ترسل المقترح الى اللجنة الاستشارية للتعديل الوراثى *GAMc*. اللجنة الأخيرة تضم فى عضويتها خيرة العلماء والخبراء فى انجلترا وهم يعينون بواسطة الحكومة لمدة ثلاث سنوات ولا تضم اللجنة أى أفراد من ذوى الخبرات الخاصة مثل خبراء الشئون البيئية أو الصحية. تقوم لجنة *GAMc* بدراسة المقترح مع أخذ كل الدلائل الموضوعة ثم تعد تقرير مفصل وترسله مرة أخرى الى لجنة الأمان الحيوى *(IBC)* ومنها الى الهيئة التشريعية المناسبة وهى تحمل المسئولية النهائية فى اتخاذ قرار النشر أو منعه ويمكنها أن تستعين بأراء ذو الخبرات الخاصة فى هذا الشأن.

التشريعات فى الدول الأخرى

معظم الدول النامية لا تملك تشريعات خاصة تغطى إنتاج أو نشر الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا *GMMs* ويوجد على الأقل حالة واحدة موثقة تتضمن الفيروسات المحورة وراثيا مما خلق جدالا واسعا. فى عام ١٩٨٦ تم التوصل الى اتفاق بين معهد ويستار فى فيلادلفيا بأمريكا وهيئة بان للصحة الأمريكية *(PAHO)* لإجراء تجربة صممت لإختبار فاكسين المحور فى البقر فى مزرعة تجريبية فى مركز بان أمريكان سونوزيس وهو يختصر الى *(CEPANZO)* فى الأرجنتين. لقد انتهت هذه التجربة فى سبتمبر ١٩٨٦ من خلال السلطات الصحية الأرجنتينية التى قامت بتدمير الحيوانات التى شاركت فى التجربة. المبردات لهذا الاجراء استندت على أن التجربة قد أجريت دون إذن أو تصريح ودون تقديم أية معلومات للسلطات العلمية فى الأرجنتين. هذه التجربة شملت استخدام فاكسين الفيروس المهندس وراثيا والذى نوقش فى المؤتمر الثانى لمنظم *REGEMs* (*Sussman* وأخرون ، ١٩٨٨). الأساس فى النقد كان يتمثل فى أن مجموعة *PAHO* استوردت الفيروس المندمج الى الأرجنتين فى الحقيبة الدبلوماسية وهذا خرق للتشريعات والقوانين الأرجنتينية حول استيراد الكائنات الدقيقة

الغريبة *Exotic*. بالإضافة الى ذلك فإن التجربة نفسها وإدارتها لم تلقى بالا وأهمية أو إعتبار لصحة وأمان العاملين الذين اشتركوا فى هذه التجربة وكذلك للتأثيرات الايكولوجية الخطيرة لفيروس الفاكسين.

إذا أخذنا كل النواحى الخطيرة التى تحيط بهذا الموضوع فى الاعتبار تبقى هذه التجربة فى الحسبان حيث يجب ألا يسمح بتكرار هذا العمل الإجرامى فى أى بلد عنده تشريعات ودلائل خاصة بالتعامل مع الميكروبات المهندسة وراثيا حتى لو كانت فاكسينات بغرض التطعيم. التساؤل الآن ماذا عن تقييم مخاطر نشر الفيروسات المندمجة. مثال ذلك أن إضافة الدنا الغريب قد يؤثر على المدى العوائلى للفيروس المندمج وقد يؤدى نقل الدنا الخاص للجين الغريب خلال الدمج بين الفيروسات الى انتاج فيروس ذات مدى عوائلى.

ثانيا: النباتات المهندسة وراثيا

لقد تقدمت طرق ووسائل الهندسة الوراثية للدرجة التى مكنت من توفير المنتجات الناتجة من دمج وهندسة الكائنات الحية للمستهلكين. اذا قصرنا الكلام بشئ من التخصص على النباتات يمكن القول أن كل المحاصيل الزراعية الهامة تقريبا قد تم هندستها فى مجهودات لتحسين واحد أو أكثر مقاومة للآفات (*Gasser and Fraey*، ١٩٨٩). المحاصيل التى تنتج نوعية أفضل من الغذاء مقاومة للآفات والاجهاد والضغوط البيئية مع أنها تتحمل الأضرار السيئة التى تحدثها مبيدات الحشائش وهذه الأخيرة أصبحت حقيقة وأمر واقع وسوف تظهر بكثرة فى القريب العاجل. هذه المنتجات ذات أهمية واقعية بشكل معنوى فى تحقيق الفوائد لمصنعى الغذاء والمستهلكين والزراعة بوجه عام. هذه المنتجات ستكون أكثر تكلفة لإنتاجها وتصنيعها كذلك ستكون قيمة غذائية عالية وسوف تحقق مرونة أكثر للفلاحين فى العمليات الزراعية المؤثرة. نظرة مستقبلية عن هذا الاقتراب توضح أن النباتات قد تستخدم لإنتاج كميات كبيرة من الببتيدات المفيدة العلاجية وكذلك الدواء الكيميائى النادر مثل التاكسول بأسعار زهيدة. صناعة التكنولوجيا الحيوية فى النباتات وصلت الأن الى نقطة أصبحت عندها الاختبارات الحقلية للنباتات المحورة وراثيا *(GMPs)* محل تقدير على أنها خطوة عقلانية وحرجة فى تقييم الأمان والاقتدار التجارى والتأثيرات البيئية لكل منتج. يمكن القول أنه قد أجريت مئات من الاختبارات الحقلية على مستوى العالم دون

أية حوادث عارضة وتم إعداد تقارير علمية عنها (*Ginzburg*، ۱۹۹۱، المركز القومی للبحوث، ۱۹۸۹، *Halvorion* وأخرون، ۱۹۸٥) وغيرها. الوصول لهذه المرحلة فی العملية التجارية يتطلب العمل مع الهيئات الحكومية التی تملك السلطة للموافقة علی إجراء الاختبارات الحقلية للنباتات المحورة وراثيا. إن طلب الحصول علی موافقة السلطات المعنية لنشر النباتات المحورة علی المستوی الحقلی يتطلب تقديم كافة البيانات والمعلومات عن الكائن وطريقة التحويل والجين وأصله والمنتجات المعبر عنها ونواتج التعبير وتأثيراتها علی البيئة. هذه البيانات تتأتی من الدراسات تحت الظروف المتحكم فيها مثل الصوب الزجاجية وحجر النمو.

(۱) النواحی البيئية المحددة لاستخدامات النباتات المهندسة وراثيا

التوجه نحو قبول الاختبارات الحقلية للنباتات المهندسة وراثيا *GMPs* يختلف ويتفاوت. من المناقشة التی ذكرت قبلا يتضح أنه بينما تختلف التوجهات إلا أن أنواع الاسئلة والأساس العلمی لاتخاذ القرارات متضمنة الإجابة عن نفس الاسئلة الأساسية. فی كل الوثائق التی تعضد *GMPs* تتم مناقشة ثلاثة نواحی:

۱- العقلانية فی تطوير المنتج وإجراء الاختبارات والفوائد المرجوة

۲- التأثيرات البيئية

۳- التأثير علی أمان الإنسان والحيوان

للحكم علی التأثيرات البيئية للنباتات المهندسة وراثيا يجری تقييم بيئی والذی يتطلب معلومات:

۱- حركة الجينات (انتشار اللقاح وكفاءة العبور الخارجی).

۲- الصفة وتأثيرها علی ايكولوجية النبات (التأثير علی اللياقة فی البيئة ، كفاءة وقدرة الغزو والمقدرة الحشائشية) وكذلك التأثيرات الثانوية والتی تعرف علی أنها تأثيرات غير ممكن التنبؤ بها علی الهندسة الوراثية مثل مستويات تغيير نواتج التمثيل (الممثلات) الثانوية.

۳- أمان منتجات الجين تجاه الكائنات غير المستهدفة واستخداماتها.

٤- مقدرة وعظم المشاكل البيئية غير المرغوب فيها (حركة الجين من خلال تقنيات أخری بخلاف التقنيات داخل النوع).

لقد تم التركيز علی النواحی البيئية لنوعين من النباتات المهندسة وراثيا والتی أختبرت علی امتداد سنوات عديدة فی الحقل وفی مناطق متعددة. الأول هو القطن

المقاوم للحشرات *(IRC)* والثانى هو الكانولا (لفت الشلجم) الذى يتحمل مبيد الحشائش جليفوسات أى الكانولا المقاوم للجليفوسات *(GTC Canola)*. مع كل مناقشة تم استعراض مخاطر التجارب الحقلية وكذلك الفوائد فى محاولة لعمل ميزان فى أى تقييم بيئى.

يجب التذكرة بثلاث موضوعات ترتبط بشكل واسع بالنواحى البيئية للنباتات المهندسة وراثيا. الأول يتمثل فى إمكانية نقل هذه الجينات خلال الأحياء بشكل عشوائى وما بين الأنواع مما يثير نوعان من الانتقادات. بينما هناك إمكانية خلال التطور فان اتجاه حركة الجين يمكن أن تحدث فان كل الادلة تشير أن حركة الجينات من النباتات الى الكائنات الدقيقة أو للانواع غير المرتبطة بالنباتات محتملة الحدوث (*Goodman and Newell*، ١٩٨٥). العديد من الأمثلة عن انسياب الجين حتى بين الأنواع المتوافقة يمكن أن تفسر من خلال التطور المتقارب. هذه الحركة العشوائية للجين تظل مثيرة للاستطلاع حتى يمكن اثبات شئ مخالف من التجريب. الثانى أن معظم التغيرات الوراثية تقلل أكثر منها تزيد من اللياقة (*Crawley*، ١٩٩٢). الأنواع والطرز الوراثية البرية عادة تكون أكثر لياقة وتكون منافسات قوية وكذلك تكون أكثر حشائشية. حيث أن معظم التغيرات الوراثية تسوى النبات تحت بعض النواحى البيئية المؤثرة فانه لا يتوقع أن النباتات المهندسة وراثيا *GMP* سيكون لها اقتدار كبير كأن تكون افة عنه كصنف تجارى يمكن الحصول عليه من خلال التربية التقليدية والانتخاب. فى النهاية لا يوجد أى دليل على الإطلاق من أن الثبرات التاجية المشتقة من الأجروباكتيريوم تومى فيسيانس عديمة الأذرع التى تعول التحولات (*Irc aand GT Canola*) (*Huttrer* وأخرون، ١٩٩٢). هذا يوضح أن الكائن يقل بدرجة كبيرة فى مزارع الأنسجة ولا يتضاعف فى البذور.

- **اعتبارات الأمان فى النباتات المهندسة وراثيا ببكتريا الباسيلليس *Bt*:**

- **المنتجات الميكروبية الباسيللية *Bt* من أكثر المبيدات الحيوية استخداما فى العالم وقد احتلت ١- ٢%من السوق العالمى للمبيدات الحشرية فى التسعينات (*Baum* وأخرون ١٩٩٩). الكراى بروتينات ذات تخصص عالى للأفات الحشرية المستهدفة حيث قد يكون تأثير قليل أو تكون عديمة التأثير على الكائنات الاخرى. على امتداد ٤٠ عاما من الاستخدام العالمى لم تحدث المنتجات الميكروبية *Bt* أية تأثيرات معاكسة على صحة الانسان والبيئة. منذ بداية تسجيل هذه المنتجات فى أمريكا منذ ١٩٦١ يوجد**

الان تسجيلات جارية على الأقل ١٨٠ منتج بكتيرى (*EPA* ١٩٩٨ – ب) فى أمريكا فى مقابل ما يزيد عن ١٢٠ منتج ميكروبى فى دول الاتحاد الأوربى. لقد استخدمت وما زالت هذه المركبات مستمرة فى الاستخدامات الزراعية وفى مكافحة ناقلات الامراض. لقد قدرت وكالة *EPA* اجراء العديد من الدراسات التوكسيكولوجية على منتجات الباسيلليس واتضح عدم حدوث تأثيرات عاكسة مما دعى الى الاستنتاج بأن هذه المركبات غير سامة أو ممرضة للانسان (*EPA* ١٩٩٨–أ). فى اصدارات متطلبات التسجيل للمبيدات من قبل الوكالة أشارت الوثائق أن منتجات الباسيلليس ليس لها تأثيرات معاكسة غير معقولة على الانسان أو البيئة وكل استخدامات هذه المنتجات مؤهلة أو جديرة بالتسجيل. لقد أشار تقدير الأمان الكيميائى فى البرنامج الدولى التابع لمنظمة الصحة العالمية *(WHO)* أن بكتريا الباسيلليس *Bt* ومنتجاتها لم تسبب أية تأثيرات معاكسة على صحة الانسان عندما توجد فى مياه الشرب أو الطعام (*IPCS* ٢٠٠٠).

- تستخدم مستحضرات *Bt* على نطاق تجارى فى الولايات المتحدة الأمريكية وكندا والمكسيك وغيرها من دول أمريكا الجنوبية وفى كل دول الاتحاد الأوربى. كذلك يشيع استخدام هذه المنتجات فى العديد من الدول الأخرى مثل روسيا والصين واستراليا ودول أوربا الشرقية. لقد استعرضت هيئة الصحة العالمية *WHO* حديثا قاعدة بيانات عن الأمان العالى لهذه المستحضرات البكتيرية *Bt* وخلصت الى: بسبب الكيفية الخاصة لإحداث الفعل فان منتجات بكتريا *Bt* لا تسبب أية أضرار على الانسان أو غيره من الفقاريات غير المستهدفة حيث وجدت خالية من البكتريا باسيلليس والمنتجات الفعالة بيولوجيا بخلاف البروتينات التى تكافح الحشرات *ICPS* (*ICPS* ٢٠٠٠). البيانات التالية والاسباب العلمية تعضد الامان البيئى وعلى صحة الانسان من خلال تجارب تقييم أمان الكراى بروتينات.
- نتائج دراسات السمية الحادة عن طريق الفم أو الغذاء أشارت الى العديد من المنتجات الميكروبية لبكتريا الباسيلليس التى تحتوى على مخاليط مختلفة من الكراى بروتينات لم تظهر أية سمية على الثدييات.
- الدراسات على البروتينات الممثلة من ثلاثة أقسام للكراى بروتينات (كراى ٢، ١، ٣) أكدت ان هذه المواد غير سامة على الثدييات عندما تعمل عن طريق الفم بجرعات عالية. كل البروتينات من أقسام الكراى بروتينات هذه تنهار بسرعة فى سائل المعدة.

- الكراى بروتينات المحورة وراثيا (الكراى بروتينات التى لم تحدث فيها التغيرات بالطرق الجزيئية) لم تحدث أية تأثيرات صحية مميزة عندما تؤخذ عن طريق الفم. البيانات عن الكراى بروتينات التى تحدث طبيعيا تنطبق على الكراى بروتينات الأصلية والمحورة وراثيا التى تنتج فى النباتات المحمية ضد الحشرات.
- الكراى بروتينات ذات طريقة فعل معقدة وعالية التخصص. بالإضافة الى ذلك توجد مواقع ارتباط خاصة فى اللافقاريات المستهدفة وتتطلب أن يحدث الكراى بروتين النشاط الابادى ضد الحشرات. التحليل المناعى الخلوى الكيميائى للكراى *1A* *immunocytochemical analysis* لم يظهر وجود مواقع ارتباط مقارنة فى الثدييات أو فى الحشرات التى لا تتأثر بهذه البروتينات.
- المنتجات الميكروبية الباسيللية *Bt* ذات تاريخ طويل (٤٠ سنة تقريبا) من الاستخدام الأمن. يوجد تقريرين فقط أشارا الى التأثيرات المعاكسة المؤثرة فى الانسان من جراء استخدام المنتجات الميكروبية *Bt* وأى منهما لم يشيرا الى التعرض للكراى بروتينات (*EPA* ١٩٨٨–أ، *Mc chintock* وأخرون ١٩٩٥).

التأثيرات الضارة على صحة الانسان *Human health implication*

المبيدات الميكروبية الباسيللية *Bt* غير سامة على الثدييات. العديد من الدراسات الخاصة بالأمان على الحيوانات والتى أجريت على مدى أربعين سنة أظهرت أن مخاليط المبيدات الحشرية الميكروبية *Bt* التى تحتوى على بروتينات غير سامة عندما تتغذى عليها الثدييات. الدراسات التوكسيكولوجية التى سلمت الى وكالة حماية البيئة الأمريكية *EPA* لتعضيد تسجيل تحت أنواع الباسيلليس ثورينجينسيز فشلت فى إظهار أية تأثيرات معاكسة معنوية فى زيادة وزن الجسم أو الملاحظات السريرية أو فى الأنسجة. بشمول أكبر وجد أن هذه الدراسات أكدت غياب السمية الحادة وتحت الحادة والمزمنة عن طريق الفم ترتبط بالمبيدات الميكروبية هذه النتائج وثيقة الصلة ببيانات تقويم أمان النباتات المهندسة وراثيا ببكتريا الباسيلليس لأن التحضيرات الميكروبية تحتوى على نفس أقسام الكراى بروتينات (كراى١، ٢، ٣) والتى أدخلت وهندست فى النباتات المحمية ضد الحشرات.

أظهرت دراسات السمية الحادة عن طريق الفم التى أجريت على الجرذان والارانب عدم حدوث وفيات مع الجرعات العالية المختبرة والتى تتراوح من عدة الاف من الملليجرامات من المنتج الميكروبى *Bt* لكل كيلو جرام من وزن الجسم. الدراسات

المذكورة فى هذا الجدول لا تظهر أية تأثيرات ضارة فى الحيوانات استنادا لعدم حدوث موت أو تغيرات فى وزن الجسم واستهلاك الغذاء وكذلك عدم ظهور أية أعراض مرضية شاملة. أظهرت الدراسات الخاصة بالسمية تحت المزمنة فى الجرذان أن المستويات عديمة التأثيرات *"no effect levels"* وصلت حتى ٨٤٠٠ مللجم *Bt* منتج ميكروبى لكل كيلو جرام من وزن الجسم/ يوم. فى دراسات التغذية المزمنة لمدة سنتان فى الجرذان لم يلاحظ أى نقص فى وزن الجسم المكتسب فى الاناث التى جرعت جرعة ٨٤٠٠ مللجم/ كجم/ يوم. فى غياب التأثيرات المعاكسة الأخرى لم تؤخذ هذه التأثيرات على أنها ذات أهمية من الناحية التوكسيكولوجية كما أن الجرعة ٨٤٠٠ مللجم/ كجم/ يوم أعتبرت هى المستوى عديم التأثير الملحوظ *NOEL* (*McClintock* وأخرون ١٩٩٥). فى دراستان مستقلتان تم تغذية المتطوعين الآدميين ١٠٠٠ مللجم من تجهيزات *Bt* الميكروبية كل يوم على امتداد خمسة أيام ولم تظهر عليهم أية أعراض سمية أو أية تأثيرات مرضية. تجهيزات الباسيلليس *Bt* التى استخدمت فى دراسات تغذية الآدميين كانت تحتوى على جينات تشفرعائلات الكراى بروتينات التالية. كراى *1Aa*، كراى *1Ab*، كراى *1B* ، كراى *2A*.

لقد احتوت وثائق دلائل الوكالة *EPA* لإعادة تسجيل مستحضرات *Bt* الميكروبية وغيرها من الدراسات المرجعية الى مراجع اضافية عن دراسات توكسيكولوجية على الثدييات والتى تم فيها معاملة مستحضرات *Bt* عبر واحد من الطرق والمداخل من التعرض بخلاف الفمى *nonoral* مثل التعرض الرئوى أو الجلدى أو عن طريق العيون أو الحقن البريتونى. لقد أجريت هذه الدراسات لتقويم القدرة المرضية/ العدوى لبكتريا *Bt* فى المستحضرات الميكروبية. لقد أعتبرت هذه الدراسات كذلك كمعايير للجودة للتأكد من عدم وجود توكسينات البروتينات غير الكراى (مثل الاكسوتوكسينات) والتى يمكن أن تنتج فى بعض سلالات الميكروبات *Bt*. عندما عوملت جرعات كبيرة (10^8 *CFUS*) من الكائنات الدقيقة الباسيللية *Bt* عن طريق الحقن فى القوارض أوضحت بعض من التقارير حدوث وفيات فى حيوانات التجارب فى بعض الظروف. لقد لوحظ الموت كذلك فى القوارض التى تم حقظها بنفس الجرعات الكبيرة من البكتريا غير المرضية مثل الباسيلليس سبتيلليس. حيث أن الموت قد يحدث بعد حقن الجرعات الكبيرة من الكائنات الدقيقة غير المرضية فإن الموت الذى حدث فى القوارض التى أعطيت جرعات كبيرة من ميكروبات *Bt* ترجع الى الكراى بروتينات الموجودة فى مستحضرات *Bt* الميكروبية (*EPA* ١٩٩٨–أ). نتائج دراسات

الحقن والحساسية لم تذكر فى هذا المقام لأنها غير وثيقة الصلة بتقويم المخاطر الصحية المؤثرة بسبب التعرض الغذائى للكراى بروتينات التى تنتج فى النباتات. حسابات الإستهلاك افترضت عدم حدوث فقد الكراى بروتين خلال تجهيز الغذاء. قيم الاستهلاك الأدمى للغذاء تحصل عليه من قاعدة البيانات *USDA TAS* (*USDA* ١٩٩٣) */FRD GEMS* (*WHO* ١٩٩٨).

متطلبات اختبار الامان لتسجيل منتجات البكتريا *Bt* كانت محط الاعتبار طوال السنوات مع استكمال الدراسات الخاصة بالسمية/المرضية فى أعوام ١٩٨٢، ١٩٨٩ ومرة أخرى فى ١٩٩٨ (*EPA* ١٩٩٨ ،ب). بينما أجريت دراسات الأمان تحت المزمنة والمزمنة مع ظهور أول منتجات ميكروبية باسيللية ان الوكالة *EPA* قدرت أن التقويم للأضرار الحادة *acute hazard assessment* كافية لتقويم أمان المنتجات الميكروبية *Bt* الجديدة. لقد بنى هذا القرار على حقيقة الكراى بروتينات فى منتجات بكتريا *Bt* تعمل من خلال التقنيات الحادة لمكافحة الآفات الحشرية وهذه التقنيات الحادة لمكافحة الافات الحشرية وهذه التقنيات لا تعمل فى الانسان. لقد أعتبرت بطارية من دراسات السمية الحادة/ المرضية كافية من قبل الوكالة لإجراء تقويم المخاطر للمبيدات الميكروبية. بالإضافة الى ذلك اتفق على أن الدلتا- اندوتوكسينات للباسيلليس *Bt* تؤثر على الحشرات من خلال تقنية معروفة جيدا حيث ترتبط بمواقع خلل فى التوازن الاسموزى ليس معروفا وجود مواقع استقبال متماثلة فى أنواع الثدييات يمكن أن تتأثر بصرف النظر عن عمر الفرد. لذلك توجد تأكيدات مقنعة بعدم احتمالات احداث ضرر على الرضع والمواليد والأجنة من جراء التعرض الغذائى لمخلفات *Bt*.

- **تحديد وتقدير أمان الغذاء من المحاصيل المهندسة ببكتريا *Bt*:**

لقد تم تقرير وتحديد أمان النباتات المحمية وراثيا ببكتريا *Bt* والموجودة حاليا فى الأسواق كغذاء للإنسان أو علف للحيوان- بالإضافة الى تقييم أمان الكراى بروتينات فان الأجزاء التى تؤكل فى المحاصيل والبروتينات العلامة للجين تم فحصها كذلك. لقد اتضح أن محاصيل الذرة والقطن والبطاطس المحمية ببكتريا *Bt* متكافئة لحد كبير (مقارنة فى التركيب) مع اقرانها غير المهندسة ببكتريا *Bt*. لم تلاحظ اختلافات معنوية فى تركيب المكونات مثل الحبوب والبذور والدرنيات والزيت والقش أو أية نواتج ثانوية أخرى بين المحاصيل المهندسة وراثيا ببكتريا *Bt* وأقرانها غير البكتيرية (*Sanders* وأخرون ١٩٩٨). الاختلاف الوحيد يتمثل فى أن النباتات الباسيلليس تقدم

حماية ضد بعض الافات من خلال التعبير عن كراى بروتين خاصة على امتداد البروتين العلامة وكلاهما ثبت أمانها للاستهلاك الأدمى. تحليل الخصائص الزراعية والمورفولوجية للنباتات المحمية ببكتريا *Bt* تؤكد كفاءة وثبات الصفات المغروسة ونقص التأثيرات غير المقصودة بشكل كبير والتى قد ترجع الى عملية التحوير الوراثى. المحاصيل المحمية ببكتريا *Bt* تحقق المواصفات القياسية لأوامر المنتج والتى وضعت لقليل من الاصناف النباتية. التقييم الخاص بصحة وعنفوان النبات، الخصائص النمو والانتاجية المحصولية والجودة والحساسية للأمراض والحشرات أظهر النباتات المحمية ببكتريا باسيلليس متكافئة موفولوجيا وزراعيا للنباتات الأم.

التأثيرات البيئية *Environmental implications*

التأثيرات البيئية للكراى بروتينات

لقد خلصت وكالة حماية البيئة الأمريكية *USEPA* الى مخاطر السمية والعدوى بسبب تأثيرات الدلتا- اندوتوكسينات على الطيور غير المستهدفة وأسماك المياه العذبة واللافقاريات والمحارات والحيوانات البحرية ومفصليات الأرجل من مفترسات/طفيليات ونحل العسل والقراد والحيوانات الثديية تتراوح من أقل ما يمكن *minimal* وحتى عدم الوجود عند معدلات الاستخدام الموصى بها والموضحة على البطاقات الاستدلالية لتسجيل[1] بكتريا الباسيلليس ثورينجينسيز من المواد الفعالة (*EPA* ١٩٩٨-أ). هذا يقدم دليل قوى أن الكراى بروتينات فى النباتات المهندسة بالباسيلليس *Bt* والتى ووفق على تسويقها تملك مخاطر قليلة على الكائنات غير المستهدفة. مستوى التعرض للكراى بروتين فى نباتات البكتريا *Bt* قليلة لحد كبير عما هو الحال مع التعرض من استخدام المنتجات الميكروبية الباسيللية *Bt* مع المعدلات الموجودة على البطاقات الارشادية. بسبب أن الكراى بروتينات تنهار بسرعة كما أنها تنتج بصفة مستمرة فى النباتات الباسيللية فان دوام التعرض البيئة سيكون طويلا مع النباتات البكتيرية بالمقارنة بمنتجات *Bt* الميكروبية.

الكراى بروتينات المعبر عنها والتى حظيت بالموافقة الكاملة فى منتجات *Bt* فى أمريكا أظهرت قليل أو عدم تأثير على الطيور والاسماك واللافقاريات المائية ومدى واسع من الحشرات النافعة. أجريت دراسات تم فيها معاملة الكراى بروتين المنقى الذى ينتج فى النظم الميكروبية لتوصيف الصفات التوكسيكولوجية لهذه البروتينات على الكائنات غير المستهدفة. كذلك تمت تغذية الحيوانات بطريقة قريب الشبه ويحاكى

التعرض الطبيعى للبروتين على الحبوب اللقاح وأنسجة الورقة من مختلف المنتجات النباتية المحمية بباسيلليس *Bt*. بوجه عام اتضح عدم حدوث موت أو أية تأثيرات سلوكية على الحيوانات غير المستهدفة التى تغذت على الكراى بروتين بكميات تزيد عن التعرض الطبيعى عشرة أمثال على الأقل وعادة أكثر من ١٠٠ مثل فى جميع الحالات لم تسجل حالة واحدة ظهر فيها تاثيرات معاكسة عند مستويات الكراى بروتينات التى تقارب ما يحدث تحت الظروف العادية. بوجه عام تم توصيف الكراى بروتينات على أنها غير سامة على الكائنات غير المستهدفة (*EPA* ١٩٩٦- جـ).

التأثيرات البيئية للنباتات لمهندسة وراثيا ببكتريا الباسيلليس *Bt*:

بسبب أن الكراى بروتينات ذات تأثير قليل أو عديمة التأثير على الفقاريات واللافقاريات بما فيها مدى واسع من الحشرات النافعة والمجموع غير المستهدفة فانه يتوقع زيادة تعدادها بسبب ادخال المحاصيل الباسيللية والتى تقلل من استخدام المبيدات الحشرية واسعة التأثيرات. زيادة المجموع هذه يؤدى الى زيادة شاملة فى التنوع الحيوى داخل النظم الزراعية وكذلك تقلل من احداث خلل فى عدد العمليات الايكولوجية المؤثرة. كما نوقش قبلا فإن مجاميع الحشرات غير المستهدفة يتوقع أن تزايد مع خفض استخدام المبيدات الحشرية واسعة التأثير. لقد تأكد هذا الوضع مع نباتات القطن والبطاطس المهندسة وراثيا.

ثالثا: الأمان الحيوى فى مصر بين التشريع والتطبيق

عندما تناولت التشريعات الخاصة بالنباتات المهندسة وراثيا والكائنات الدقيقة كذلك فى الدول المتقدمة وأهمية الأمان الحيوى كان لابد أن أبحث عن هذا الأمان فى مصر لأننا مهيئين تماما ومستهدفين لدخول هذه التكنولوجيا الجديدة من الخارج أو من معاملنا الى الزراعة المصرية والبيئة المصرية. لذلك توجهت الى أخى وصديقى العزيز أ. د. مجدى مدكور مدير معهد بحوث الهندسة الوراثية الزراعية بمركز البحوث الزراعية التابع لوزارة الزراعة أسأله العون والمشورة. لقد تفضل سيادته بإعطائى نسخة من نظام ومحددات وتشريعات "تاسيس نظام قومى للأمان الحيوى فى مصر: الارشادات والأنظمة" والذى تم إعداده عام ١٩٩٤. سوف أضع هذا الاصدار كما هو دون تعليق حتى يتأكد القارئ الكريم أننا نتواكب مع متطبات الامان على نفس المستوى إن لم يكن أفضل من الدول المتقدمة.

تمهيد:

تحتل تطبيقات التقنية الحيوية موقعا متميزا فى التوسع العلمى الكبير خلال هذا العقد. ولما كان إنتاج وانتشار نواتج الكائنات الحية المعاملة بالهندسة الوراثية قد أثار احتمال تعرض الانسان والبيئة للمخاطر لهذا كان يتعين أن تجرى كافة بحوث التقنية الحيوية فى إطار ضوابط منظمة للأمان الحيوى.

وتعنى هذه الوثيقة بإنشاء نظام قومى للأمان الحيوى فى مصر بهدف تقديم دليل لمساعدة صانعى السياسات فى إنشاء أنسب نظام قومى للأمان الحيوى حيث لا يتوفر هيكل يلائم هذا النظام حاليا. وقد تم إعداد الهيكل المقترح للنظام القومى ويتضمن المرفقات الإرشادات الخاصة بالأمان الحيوى بعد تطويرها بمعرفة المنظمات العالمية المتخصصة.

إن اقامة مثل هذا النظام سوف يؤكد استمرارا التقنية الحيوية فى أمان دون تعريض العاملين والمجتمع والبيئة لأية مخاطر محتملة.

مقدمة:

المقصود بالتقنية الحيوية أى تقنية تستخدم الكائنات الحية أو مستخرجاتها فى تطوير أو تحسين انتاج المحاصيل والأغذية والأدوية ومستلزمات الرعاية الصحية والأمصال والصناعات الكيماوية ومنتجاتها كما ونوعا وتتدرج هذه التقنيات بين التقنيات الحيوية التقليدية واسعة الانتشار والتقنيات الحديثة التى تعتمد على طريقة إندماج الحامض النووى الديوكسى ريبوزى المعاد تجميعه *(r- DNA)* والتى تعرف بالهندسة الوراثية. وتتضمن أعراض استخدام نواتج الكائنات الحية الدقيقة المطورة وراثيا للسيطرة على الأمراض ومبيدات الحشائش فى الزراعة وإنتاج اللقاحات وتطهير النفايات من الكيماويات السامة والترشيح الميكروبى للخامات المعدنية وتحسين استخلاص الزيوت البترولية. وتكتسب النباتات المعاملة بالهندسة الوراثية عدة مزايا منها زيادة المقاومة للأمراض ومبيدات الحشائش، تحمل الجفاف والظروف البيئية الأخرى الغير ملائمة، تقليل الفاقد من المواد الغذائية أثناء التخزين والنقل وزيادة القيمة الغذائية أثناء التخزين والنقل وزيادة القيمة الغذائية للمنتجات الغذائية.

الأمان الحيوى:

يستخدم هذا المصطلح فى شرح السياسات والطرق المتبعة فى تأمين التطبيقات الأمنةللبيئة للتقنيات الحيوية الحديثة. ويكتسب سعة الانتشار بقدر ما تسعى كثير من

الدول للإفادة من التطبيقات العلمية الحديثة فى الزراعة والطب والبيئة دون أن تتعرض الصحة العامة والأمان البيئى للخطر.

وقد أسست العديد من الدول الصناعية الأنظمة الخاصة بقواعد التقنية الحديثة، كما قامت اللجنة الاستشارية *r- DNA* (الحامض النووى الديوكسى ريبوزى) بمعهد الصحة القومى *(NIH)* بتطوير أساليب اختبار وتقييم الأمان للتجارب المقترحة ونشرت ارشادات مكثفة للشروط التى يقتضى عند اجراء نماذج من التجارب المتنوعة. وتقتصر ارشادات معهد الصحة القومى على الاستخدام المعملى لمادة *r- DNA* دون اطلاق الكائنات المعاملة وراثيا الى البيئة ويتضمن المرفق رقم "١" إرشادات معهد الصحة القومى.

ولما كان اختبار الحامض النووى الديوكسى ريبوزى المعامل بالهندسة الوراثية يجب أن يجرى خارج العمل فهناك طريقة تعرف بالاطلاق المتأنى *Deliberate* أو الإدخال المخطط *Planned introduction* لإدخال هذه الكائنات المعاملة فى البيئة مما قد تنشأ عنه بعض المخاطر المصاحبة لتمرير هذه الكائنات المعاملة بالهندسة الوراثية.

← أسئلة تتعلق بالتعريف بالأخطار التى تنشأ عن اطلاق الكائنات الحية الدقيقة فى البيئة:

- هل يمكن أن ينشأ مصادفة عن استخدام تكنولوجيا *r- DNA* أمراض وبائية جديدة للنبات؟
- هل يقود استخدام *r- DNA* الى تحويل الكائن غير المرضى الى كائن ممرض بمحض الصدفة؟
- هل من الممكن انتشار الجين المستحدث فى الاوساط الميكروبية؟
- هل هناك تأثير للكائنات الحية الدقيقة المعاملة بالـــ *r- DNA* على إحداث تغيير بالتجمع الميكروبى للتربة؟

حددت الأكاديمية القومية الأمريكية للعلوم *(NAS)* المخاطر الناتجة عن اطلاق الكائنات المعدلة بالهندسة الوراثية فيما يلى:

- ليست هناك أية شواهد تنبئ عن وجود خطر واحد سواء من استخدام تقنيات *DNA* أو من نقل الجينات بين كائنات متباينة.

• تتماثل المخاطر المصاحبة لإدخال الكائنات المعاملة بالهندسة الوراثية من حيث النوع- بتلك المصاحبة لإدخال كائنات غير مطورة أو الكائنات المطورة بطرق أخرى.

فى خطوة لاحقة دعت منظمة الأمم المتحدة للتنمية الصناعية *(UNIDO)* الى عقد اجتماع لمجموعة من الخبراء بفيينا فى مارس ١٩٩١ ضم عشرين خبيرا يمثلون النواحى الأكاديمية والصناعية والحكومات من الدول النامية والمتقدمة والمنظمات الدولية لإعداد مسودة دستور (أو مجموعة مبادئ) تحكم التداول الآمن واستخدام واطلاق الكائنات الحية المعدلة التركيب الوراثى فى البيئة وذلك فى محاولة لإيجاد تجانس بين الارشادات القائمة واقتباس الحد الأدنى من المبادئ المقبولة على المستوى العام وتقديم إطار عمل دولى فى صورة مجموعة مبادئ لإطلاق الكائنات الحية المعاملة بالهندسة الوراثية، وذلك بهدف إقامة الحد انمقبول من التعاون الدولى اللازم.

قد عنى بأن تكون هذه الارشادات تم التعبير عنها فى هذا الكود صديقا للمستخدم بغرض: تنشيط مراحل التقنية الحيوية وتقدمها والتى يمكن تطويرها أو امتدادها لتتلائم مع حالات بعينها تبعا لرغبة كل دولة ويتضمن المرفق رقم (٢) الـــــ *Code of conduct* هذا الكود.

ولقد وجهت الدول النامية أيضا بالطلب المتزايد على ادخال أبحاث الحامض النووى الديوكسى ريبوزى المعاد تجميعه *r- DNA* ونتيجة للحاجة العاجلة للمجتمع العلمى لتوفير المشورة لكل من الباحثين والمنظمين فى مجال تقييم المخاطر المصاحبة للتقنية الحيوية.

لهذا يتعين انشاء نظام قومى للأمان الحيوى فى اطار التنظيم القائم والمعاهد العلمية المتوفرة والافراد والتشريعات الحالية بأكبر قدر مستطاع بحيث يقدم الآليات المناسبة لكل من التطبيقات المحتواه وغير المحتواه بما يتضمن أمان المنتجات المستخدم فيها أساليب التقنية الحيوية التقليدية.

هذا ويتطلب إعداد سياسة قومية لقواعد أبحاث *r- DNA* فى الدول النامية توفر العناصر التالية:

١ــ إيجاد هيكل قومى تنظيمى مع توفر الدعم المالى ، ويتألف الهيكل التنظيمى من:

أ- لجان الامان الحيوى التى تتكون منها السلطة التنظيمية

ب- مجموعة من التشريعات الخاصة بالأمان الحيوى والقواعد والارشادات التى يجب إتباعها

٢ـ إتاحة التمويل والخبرات العلمية والفنية المناسبة لتحليل قيم المخاطر وأشكالها.
٣ـ التنسيق مع المنظمات الدولية.
٤ـ تحديد الية لتجميع المعلومات الخاصة بالظروف الزراعية والبيئية والمحلية.
٥ـ أنظمة لمتابعة تطور التقنية الحيوية التى قد تؤثر على صحة العاملين وسلامتهم.
٦ـ توفر الثقة فى خبرة صانعى القرار.
٧ـ أنظمة لتوفير المعلومات والتوعية اللازمة للجمهور.

تقدم هذه الوثيقة مقترحات خاصة للسياسات والاجراءات التى قد ترغب السلطات الوطنية فى الأخذ بها عند انشاء نظام الأمان الحيوى، كما تتضمن اقتراح هيكل تنظيمى وأمثلة لطرق تقييم المخاطر والارشادات الملائمة للبيئة المصرية.

ومرفق طيه المستويات المقبولة دوليا لمجموعة المبادئ مع تقديم أمثلة للبحث مقيمة فى اطار الارشادات. ومما يجدر ذكره أن جميع هذه البنود تقدم وتناقش كأمثلة لخطة متناسقة لنظام الأمان الحيوى. كما أنه من الأهمية بمكان الاشارة الى أن هذا العرض عكس مختارات بسيطة من العدد الكبير من الأليات المستخدمة دوليا على نطاق واسع لأغراض الأمان الحيوى.

وختاما تجدر الاشارة الى أن المخاطر التى قد تتعرض لها صحة الانسان والبيئة لا تقتصر على التقنية الحيوية بوجه خاص، بل أن هذه الاسئلة قد طرحت كعنصر هام فى مجال تقنية وتنظيم الارتفاع بمستوي المنتجات باستخدام أكثر من التقنيات القديمة والحديثة مثل التقنيات القديمة والحديثة مثل الكيماويات والمستحضرات الدوائية.

تعريفات:

البيئة المتاحة (المتقلبة): تعزى الى تلك البيئة التى فى إمكان الكائن الحى ونتاجه الوصول اليها اذا أدخل الى مكان البحث.

الأمان الحيوى: يعزى الى السياسات والطرق المجهزة لكى تضمن التطبيق الأمنى البيئى على التكنولوجيا الحيوية.

الحصر (الاقتصار): يعزى الى حجز أو تقليل انتشار أو بقاء الكائن الحى أو منتجاته فى البحث الشامل على ادخال هذه الكائنات الحية الى البيئة.

الإمكانيات المتاحة: تعزى الى المبانى (مثل المعامل والصوب) التى تحبط بالكائن الحى وتمنعه أو تحد من حركته خارج البناء.

الكائن الحى المغير (المحور) وراثيا: يعرف علميا بأنه ذلك الكائن الحى الذى عدلت صفاته الوراثية بواسطة التدخل البشرى باستخدام أى طريقة تؤدى الى ادخال أو إعادة ترتيب أو انتقال المادة الوراثية من جينات الكائن الحي.

النظام البيئى الطبيعى أو المدبر: تعزى الى النبات والحيوان والكائنات الحية الدقيقة وتفاعلاتها فى البيئة الداخلية والبرية.

الكائن الحي: هو أى كينونة حيوية سواء كانت خلوية أو لا خلوية مع قدرته على البقاء ذاتيا واستجابته لعوامل وقوة وتطور.

الكائن الحى الأصيل (الابوى): يعزى الى الكائن الحى الأول الذى يصبح مستقبلا لإدخال المادة الوراثية أو الجين الخاص به يصبح متغيرا عن طريق ازالة أو إعادة ترتيب مادته الوراثية.

المشروع البحثى المخطط للإدخال فى البيئة: يعزى الى المشروع البحثى خارج الأماكن المخصصة فى مكان مصمم مع تقييد ملائم المهندس وراثيا للكائن الحى الى البيئة *r- DNA*.

تقييم المخاطر: يعزى الى تقييم المخاطر من الإدخال على والانسان ونظام التدبر الطبيعى أو المروض.

المصطلحات

ABRAC	اللجنة الاستشارية لبحوث الهندسة الوراثية الزراعية
APHIS	خدمات فحص صحة الحيوان والنبات
BSO	موظف (قائد) الأمان الحيوى
EA	التقييم البيئى
FONSI	البحث عن أثر غير هام
GEOS	كائنات حية مهندسة وراثيا
GMOS	كائنات حية معدلة وراثيا
IBC	لجنة الأمان الحيوى
LSC	معدل الأهمية الأمنية
NAS	الأكاديمية العلمية الدولية
NBC	اللجنة القومية للأمان الحيوى
NBIAP	برنامج تقييم الأثر الحيوى الدولى
NIB	معاهد الصحة الدولية
PI	المسئول (المفتش) الرئيسى
UNIDO	منظمة الأمم المتحدة للتنمية الصناعية
USDA	وزارة الزراعة الأمريكية

أصبحت إقامة نظام قومى للأمان الحيوى ضرورة ملحة نتيجة الزيادة السريعة فى إدخال تطبيقات التقنية الحيوية فى مصر.

إن إقامة أمان حيوى قومى مع ضمان الالتزام بقواعدها يحقق الآتى:

١- التأكيد على استمرارية التقنية الحيوية بصورة امنه دون تعريض العاملين والمجتمع والبيئة لأية أثار ممكن تجنبها.

٢- تسهيل الوصول الى التقنيات الحيوية المبتكرة بالخارج حيث أن كثير من المعاهد الدولية والشركات لا تقوم باختبار كائنات حية معاملة بالهندسة الوراثية الا بعد الموافقة عليها من جهة حكومية مسئولة.

٣- سرعة تقبل المجتمع مع ما يتبعه ذلك من مزيد من التنمية للتقنية الحيوية الحديثة.

المبادئ الأساسية لإعداد سياسة قومية لتنظيم التقنية الحيوية.

١- المراجعة الدورية لإبراز الخصائص والمخاطر التى تم التعرف عليها لمنتجات التقنية الحيوية دون الاقتصار على الطريقة التى أحدثتها بصفة أساسية.

٢- يجب أن تكون مراجعة التقنية الحيوية التى يتعين مراجعتها مصممة على أساس معايير الكفاءة والتأثير مع التأكيد على حماية الصحة العامة وأمان البيئة.

٣- يراعى أن تتكامل الاحتياجات التنظيمية للتقنية الحيوية الحديثة فى اطار قواعد المنظومة الشاملة التى تحكم عملية ادخال منتجات جديدة فى القطاع الزراعى.

٤- أن درجة معرفة سلوك الكائنات المثيلة عند اطلاقها فى البيئة يجب أن تحدد مستوى التنظيم المطلوب بحديه الأدنى والأقصى اعتمادا على درجة المخاطر التى تم التعرف عليها.

٥- يتعين أن تكتسب برامج المنظومة المرونة والقدرة على سرعة التكيف مع المعلومات الجديدة والتقدم السريع فى التقنية الحيوية.

الجزء الاول: لجان الأمان الحيوى

إن إنشاء لجنة استشارية قومية للأمان الحيوى يعتبر الخطوة الاولى فى تطوير السياسات الملائمة والاجراءات الخاصة بالتقنية الحيوية، حيث تقوم هذه اللجنة بسرعة وضع السياسات وتحديد الاجراءات التى تحكم استخدام التقنية الحيوية الحديثة فى البلاد.

(١) اللجنة القومية للأمان الحيوى *(NBC) National Biosafety Committee*

شكلت لجنه مصرية قومية للأمان الحيوى تضم أعضاء من واضعى السياسات والمصممين والخبراء العلميين فى الزراعة والصحة والبيئة من الحكومة والمعاهد الأكاديمية للبحوث.

الجزء الثانى: ارشادات (احتياطات) الأمان الحيوى

(١)تقدير أو تقييم المخاطر

إن مدى تعرض صحة العاملين والآخرين بالقرب من مكان العمل هو العنصر الرئيسى الهام فى تقدير المخاطر المصاحبة لاستخدام الكائنات الحية المحورة وراثيا.

هذه المخاطر تتناسب مع مجال وطبيعة العمل وكل الأجهزة المنظمة تفضل الاستخدام المحدود لها فى مجال البحث والتنمية.

أما الاستخدام الواسع النطاق الذى قد يسبب خطورة على الصحة أو البيئة المحيطة وزيادة المخاطر المحتملة بالبيئة عندما قد يحدث تسرب الكائن الحى من منطقة الانتاج لذلك فأنه يجب استخدام طرق أخرى أكثر صرامة لاحتواء هذه الخطورة.

الاحتواء ممكن أن يكون عملا طبيعيا ومثال ذلك الحواجز التى تحد من تسرب الكائنات الحية أو احتواء حيويا ومثال ذلك التحكم الفسيولوجى فى حيوية وتضاعف وتكاثر الكائن خارج البيئة الأصلية.

* فى عام ١٩٨٩ وضعت الأكاديمية الدولية للعلوم *(NAS)* الأسئلة الثلاثة التالية للحكم على درجة الخطورة:

١- هل نحن ملمين بخواص الكائن الحى والبيئة المحتملة استقدامه اليها ؟

٢- هل نستطيع أن نتحكم فى الكائن الحى بكفاءة ؟

٣- ما هى التأثيرات المحتملة على البيئة وهل الكائن الحى أو الخاصية الوراثية المستقدمة تبقى لوقت أطول من المتوقع أو تنتشر بالبيئة غير المستهدفة ؟

إن التكنولوجيا الحديثة تثير العديد من الاسئلة على درجة الخطورة والتى تفتقر الى قلة أو انعدام المعلومات التى تساعد فى تقييمها.

والتعريف المقترح يكون الخطر= احتمالية الخطورة x درجة الخطورة

كما شرح مسبقا أن التكنولوجيا الحيوية تهدف الى انتاج محاصيل بخواص جديدة مفيدة للجنس البشرى وهذا يعنى اذا كان هناك أى زيادة فى الخطورة يجب أن يتوازن مع المنفعة الناتجة من المحصول الجديد وسنعتبر الخطر بأنه الخطر المقبول.

الخطر المقبول = (احتمال المخاطرة × درجة الخطورة) / المنافعة من المنتج

وحتى يتسنى لنا فهم الظروف التى يمكن أن تؤدى الى تحول نبات معدل التركيب الوراثى الى حشيشة ضارة أو ذو تأثير ضار على البيئة، فإنه يجب معرفة تأثير العوامل فى الموديل التالى:

معدل زيادة النبات المعدل التركيب الوراثى فى بيئة معينة = معدل نمو وتكشف النبات + انتاجه للبذور (الوقت والمدة).

+ بقاء الأجزاء الخضراء حية (مطروح منه معدل الموت)
- تأثير المنافسة مع النباتات الأخرى من نفس النوع
- تأثير المنافسة مع الأنواع الأخرى من النباتات
- تأثير الآفات الزراعية (الحشرات والفطريات)
- تأثير الفطريات وأمراض النبات الأخرى
+ هجرة البذور المنقولة وراثيا من أماكن أخرى
+ معدل إنتاج النباتات المعدلة التركيب الوراثى من بذور ساكنة فى التربة

يجب أن تقيم الظروف التى يجرى تحتها البحث بالكائنات الحية المحورة وراثيا بأمان المقارنة مع الظروف المقبولة طبيعيا لاجراء بحوث على الكائنات الحية الأصلية (الأبوية).

وعلى ذلك فان تقييم الأمان يكون ضروريا لتحديد مستوى العمل الأمنى.

١- تحديد مستوى العمل الأمنى *LSC*

أوصت اللجنة الاستشارية لبحوث التكنولوجيا الحيوية الزراعية بخطوات متدرجة للسكرتير المساعد للعلوم والتربية لتقييم مستوى العمل الأمنى للكائنات الحية المحورة وراثيا والتى تنقسم الى ثلاث مستويات وتحديد مستوى العمل الأمنى ذو أهمية عظمى لتحليل خطورة استخدام الكائنات المحورة وراثيا على صحة الانسان والنظام البيئى الطبيعى.

الخطوة الأولى:

تحديد مستويات العمل الأمنى للكائنات الاصلية (الابوية) والتى تعتمد على خاصيتين هما:

١- درجة الخطورة على صحة الانسان والبيئة المحيطة أو النظام البيئي الطبيعى.

٢- القدرة على التعامل أو التحكم فى الكائن الحى أثناء استقدامه المخطط الى البيئة وبناءا عليه يجرى البحث بطريقة امنه.

المستوى الأول للعمل الأمنى للكائنات الحية الأصلية (الابوية)

الكائن الحى يؤدى الى خطر قليل للصحة وليس هناك خطر غير معقول على البيئة المعاملة أو النظام البيئى الطبيعى. هذه الكائنات الحية والتى لها مساهمات بيئية فى البيئة الخاصة المستقبلة تكون مفهومة.

بعض المساهمات فى الخليط ممكن أن تشير الى المستوى الأول هى:

١- ليس هناك تاريخ لأثار سيئة فى البيئة المستقبلة.

٢- قدرة ضئيلة على التحور لتصبح كائنات حية ضارة فى البيئة المستقبلة (سهلة الوصول).

٣- احتمال ضئيل لبقائها فى البيئة المستقبلة (سهلة الوصول).

المستوى الثاني للعمل الأمنى للكائنات الحية الأصلية (الآباء)

الكائنات الدقيقة والتى لها مساهمات بيئية فى البيئة المستقبلة ممكن أن تؤدى الى خطورة مع صحة الانسان والتى ليست بالضئيلة أى ممكن أن تؤدى الى ضرر أو خطورة غير معقولة للنظام البيئى الطبيعى والتى يمكن أن تعامل وتحكم بواسطة حصر مناسب (وضع مناسب).

المستوى الثالث للعمل الأمنى للكائنات الحية الأصلية (الآباء)

الكائنات الحية التى لها صفات بيئية فى البينة المتقبلة يمكن أن تؤدى الى خطورة على الصحة الآدمية والتى ليست بصورة ضئيلة أو تؤدى الى خطر غير معقول للبيئة المعاملة أو النظام البيئى الطبيعى. وليس هناك حصر يمكن اجراؤه ليؤكد أن التطبيق الأمن للبحث خارج الإمكانيات المتوفرة.

بعض الخصائص التى تحدد المستوى الثالث للأمان للكائنات الحية هى:

١- ثبات لتأثير ضار على البيئة المخصصة.

٢- القدرة على البقاء والانقسام فى البيئة.

٣- ليس له حالة مستقرة فى البيئة.

٤- كثرة تبادل المعلومات الوراثية مع تأثير ضار.

٥- افتقاد الطرق المؤثرة للحد من انتشار أو تسرب الكائنات الحية.

٦- افتقاد الطرق الكافية للسيطرة أو منع حالات الانتشار.

الخطوة الثانية: تحديد تأثير التغيرات الوراثية على مستوى العمل الأمنى

يجب أن يقيم التغيرات الوراثية على أساس تأثيرها على صفة الكائن الحى الأصيل (الأبوى) والتى قد تم تقيمها فى الخطوة الأولى. حيث أن التحور الوراثى قد لا يكون له تأثير على الأمان أو يتطلب زيادة الأمان الحيوى.

تأثير التحور الوراثى على الأمان يجب أن يقيم على الأسس التالية:

١- تأثير مباشر للكائن الحى على صحة الانسان أو البيئة.

٢- تأثير غير مباشر للكائن الحى من خلال المواد التى ينتجها.

٣- تأثير التبادل الوراثى مع الكائنات الحية الأخرى.

فى الخطوة الثانية يجب على الباحثين ان يفحصوا طريقة التحور الوراثى والخواص الجزيئية وثبات الجينات المحورة والتعبير والوظيفة وتأثيرات الجينات المحورة.

النوع الأول: التحور الوراثى الذى يقلل العمل الأمنى للكائنات الحية المحورة.

التحورات التى تمنع أو تعوق نشاط الجين أو الجينات المسئولة عن الصفات مثال ذلك: القدرة على احداث المرض والخصوبة والبقاء والتلاءم بطريقة تؤدى الى زيادة الأمان للكائن الحى.

النوع الثانى: التحور الوراثى الذى ليس له تأثير على العمل الأمنى للكائن الحى المحور يتطلب ذلك دراية واعية بالبيولوجية الجزيئية والعلوم الأخرى التى تطلب الخبرة المناسبة والتى توضح أن التحور قد تم توصيفه جيدا وأن وظيفة الجين وتأثيره قد تم استيعابها لتوقع الأمان.

التحورات تشمل:

١- إدخال أو حذف أو إعادة ترتيب جزء من الأحماض النووية والذى ليس له أى عواقب فى المظهر الخارجى أو الوراثى فى البيئة.

٢- إدخال أو حذف أو إعادة ترتيب الأحماض النووية التى لها عواقب متوقعة فى المظهر الخارجى أو الوراثى فى البيئة وغير مرغوبة وممكن أن تؤدى الى تأثير ضار إضافى الى الصحة الآدمية والبيئة.

النوع الثالث: التحور الوراثى الذى يزيد العمل الأمنى للكائن الحى المحور
تشمل التحورات ما يلى:

١-ادخال أو حذف أو إعادة ترتيب الأحماض النووية التى تؤثر على تعبير الجينات ولكن الوظائف أو التأثيرات ليس مفهومة بصورة كافية بالتأكيد ما اذا كان الكائن الحى المحور يؤدى الى خطر أكبر من الكائن الحى الغير محور.
٢-إدخال أو حذف أو إعادة ترتيب الأحماض النووية والتى لها عواقب معروفة أو متوقعة فى الشكل الظاهرى أو الوراثى فى البيئة الى أثار سيئة إضافية على صحة الانسان والبيئة.

الخطوة الثالثة: تحديد مستوى العمل الأمنى للكائنات الحية المحورة وراثيا

تصنف الكائنات الحية المحورة وراثيا تبعا لدرجة الأمان الحيوى المطلوبة الى ثلاث مستويات تبعا لتأثير التحور الوراثى على خصائص أو صفات الكائن التى تأثرت وقد تؤدى الى تغير مستوى العمل الأمنى للكائنات الحية المحورة بالمقارنة بالكائن الحى الغير محور.

مستوى العمل الأمنى للكائن الحى المحور وراثيا يعتمد على نفس الخصائص المطبقة لتقدير أو تحديد مستوى العمل نس الخصائص المطبقة لتقدير أو تحديد مستوى العمل نفس الخصائص المطبقة لتقدير أو تحديد مستوى العمل الأمنى للكائن الحى الأصيل (الأبوى).

المستوى الأول (الكائن الحى الأصيل)

- المستوى الأول للعمل الأمنى للكائن الحى الأصلى مع النوع الأول من التحور يعتبر *LSC-1* للكائن الحى المحور وراثيا.
- المستوى الأول للعمل الأمنى للكائن الحى الأصلى من النوع الثانى من التحور يعتبر *LSC-2* للكائن الحى المحور وراثيا.

ـ المستوى الأول للعمل الأمنى للكائن الحى الأصلى من النوع الثالث من التحور يؤدى الى LSC-3 ، LCS-2 ، LSC-1 كائنات حية محورة وراثيا تعتمد على درجة العمل الأمنى كالأتى:

١- إذا كان التحور من النوع الثالث يؤدى الى زيادة طفيفة فى العمل الأمنى وعليه الخطر لصحة الانسان تبقى طفيفة أو مهملة والخطورة للبيئة المعاملة أو النظام البيئى الطبيعى تبقى معقولة بدون الاحتياج الى مقاييس منع وعليه تبقى الكائن الحى المحور وراثيا LSC-1.

٢- إذا كان التحور من النوع الثالث يؤدى الى زيادة العمل الأمنى للدرجة التى فيها الخطورة لصحة الانسان ليست مهملة أو الخطر للبيئة أصبح ليس معقول ولكن الحصر الممكن إجراؤه والمتاح لإجراء البحث مع وجود خطورة ضئيلة على صحة الانسان والبيئة ومن ثم الكائن الحى المحور يكون LSC-2.

٣- إذا كان التحور من النوع الثالث يؤدى الى زيادة العمل الأمنى للدرجة التى يكون فيها الادخال للبيئة غير مستطاع التعامل معه أو التحكم فيه بصورة كافية لتحقيق خطورة ضئيلة على صحة الانسان وخطورة معقولة على البيئة. ومن ثم يكون الكائن الحى المحور يكون LSC-3.

المستوى الثانى للكائن الحى الأصيل (الأبوى)

١- المستوى الثاني من العمل الأمنى للكائن الحى الأصيل من النوع الأول التحورات تؤدى الى LSC-1 أو LSC-2 للكائن الحى المحور وراثيا تتوقف درجة العمل الأمنى على ما يلى:

أ- لو كان التحور من النوع الأول يقلل العمل الأمنى الى الحد الذى يؤدى فيه الكائن الحى الى خطورة منعدمة أو ضئيلة على صحة الانسان وخطورة معقولة على النظام البيئى المعامل أو الطبيعى. بدون الحاجة الى مقاييس حصرية وعليه يكون الكائن الحى المحور وراثيا LSC-1.

ب- لو كان التحور من النوع الأول يقلل العمل الأمنى والخطورة على صحة الإنسان تكون منعدمة والخطورة على النظام البيئى الطبيعى أو المعامل تكون معقولة فقط عندما تعامل باستخدام المقاييس الحصرية وعليه يكون الكائن الحى المحور وراثيا LSC-2.

٢- المستوى الثانى من العمل الأمنى للكائن الحى الأصيل من النوع الثانى المحور يظل LSC-2 كائن حى متحور وراثى. مقاييس حصرية مناسبة ضرورية لنشر النخطط فى البيئة.

٣- المستوى الثانى من العمل الأمنى للكائن الحى الأصيل من النوع الثالث المحور ينتج فى LSC-2 أو LSC-3 كائن محور وراثى. تعتمد على درجة الزيادة ى العمل الأمنى كالآتى:

أ- إذا كان المستوى الثالث للتحور يرفع من درجة الأمان الحيوى ولكن الإدخال المخطط للبيئة يظل ممكن معاملته أو التحكم فيه بواسطة قياسات حصرية منسبة ومن ثم يكون الكائن الحى المحور وراثيا LSC-2.

ب- إذا كان النوع الثالث للتحور يرفع درجة العمل الأمنى للدرجة التى يكون معها تأكيد غير معقول بأن الإدخال المخطط فى البيئة يمكن أن يعامل أو يحكم. ومن ثم يكون الكائن الحى المحور وراثيا LSC-3 يجرى البحث تحت مقاييس حصرية حتى يكون هناك تأكيد بأنه يحكم بإسلوب امن.

المستوى الثالث للكائنات الحية الأصلية (الأبوية)

المستوى الثالث للعمل الأمنى للكائن الحى الأصيل من النوع الأول المتحور يؤدى الى كائن حى محور وراثيا LSC-1 , LSC-2 , LSC-3 معتمدا على درجة التقليل فى العمل الأمنى كما يلى:

١- لو أن النوع الأول من التحور يقلل العمل الأمنى الى الدرجة التى فيها الإدخال المخطط فى البيئة يؤدى الى خطورة منعدمة أو قليلة على صحة الانسان خطورة معقولة على النظام البيئى المعامل أو الطبيعى وعليه أن يكون الكائن الحى المحوروراثيا LSC-1.

٢- لو كان النوع الأول من التحور يقلل العمل الأمنى ولكن المقاييس الحصرية تكون ضرورية للإدخال المخطط فى البيئة مع خطورة منعدمة لصحة الانسان وخطورة معقولة للنظام البيئى المعامل أو الطبيعى وعليه يكون الكائن الحى المحور وراثيا LSC-2.

٣- لو كان النوع الأول من التحور يقلل العمل الأمنى ولكن ليس للدرجة التى يمكن بها معاملة أو التحكم فى الإدخال المخطط للكائن الحى لتحقيق خطورة منعدمة

على صحة الانسان وخطورة معقولة للنظام البيئى الطبيعى أو المعامل ومن ثم وعليه يكون الكائن الحى المحور وراثيا LSC-3.

ـ المستوى الثالث من العمل الأمنى للكائنات الحية الأصلية مع النوع الثالث أو الثانى من التحور ينتج كائنات حية محورة وراثيا LSC-3.

احتياطيات الأمان الحيوي

احتياطيات الأمان الحيوي مصممة للتأكد من أن المنتجات من التكنولوجيا الحيوية ليس لها تأثير على البيئة أو الزراعة وكذلك منع انتشار الميكروبات المهندسة وراثيا من الانتشار العشوائى.

بالإضافة لحماية الجماعات المحيطة المتعاملين والباحثين فى مجال استخدام مثل هذه المنتجات بدءا من مرحلة البحوث حتى التوزيع التجارى.

(١) احتياطيات الأمان الحيوي بالمعامل

١- ممنوع تخزين الأطعمة وتناول المأكولات والمشروبات والتدخين.

٢- ممنوع استخدام الماصات التى تستخدم بالفم.

٣- ارتداء الملابس الخاصة بالمعمل إجباريا ويجب أن تخلع قبل الخروج من المعمل.

٤- يجب أن تطهر الأسطح المستخدمة بواسطة الصابون والكحول بعد انتهاء العمل اليومى.

٥- النفايات أو الفضلات يجب أن تطهر بواسطة التعقيم أو الحرق.

٦- تكرار غسيل الأيدى إجباريا (على الأقل تواجد حوض واحد لغسل الأيدى).

٧- يجب اجتناب لمس الميكروبات المحورة وراثيا والمواد البيولوجية المستوردة ويجب لبس الجوانتى عند التعامل مع هذه المواد ولا تستخدم هذه الجوانتيات إلا مرة واحدة.

٨- أبواب المعامل يجب أن تكون مغلقة طوال الوقت.

٩- التعامل مع الكيماويات المنتجة للأبخرة داخل المكان المخصص لذلك.

١٠- علا مات التحذير يجب أن تعلق دائما فى المعامل.

(٢) احتياطيات أو إرشادات خاصة بالأمان الحيوى للصوبات (البيوت الزجاجية)

- يجب أن تكون الصوب مغلقة دائما

- درجة الأمان الحيوى وكود ورمز الأمان يجب أن يكون معلق على مدخل الصوبة.
- نظام الهواء يجب ألا يسمح بانتشار حبوب اللقاح أو الميكروبات المحورة وراثيا من الصوب.
- جميع أجزاء النبات سواء حية أو غير حية أو النباتات التى أدخلت فى الصوب عن التخلص منها يجب تعقيمها أولا أما اذا كانت ستخزن فيجب أن يكون التخزين فى أماكن أخرى مجهزة وفى هذه الحالة يجب مراعاة شروط الأمان وأثناء النقل.
- المياه الناتجة يجب أن تعالج كيميائيا قبل أن يتم تصريفها.
- يجب إرتداء الملابس الخاصة بالصوب طوال الوقت ويجب تعقيم هذه الملابس قبل الخروج من الصوب لأى سبب.
- يجب غسيل الأيدى قبل الدخول وعند الخروج من الصوب.
- وجود دواسة مغموسة فى مادة مطهرة عند مدخل الصوب.
- تسجيل يومى للتجارب التى تجرى فى الصوب.

(٣) احتياطيات الأمان الحيوي فى التجارب النصف حقلية

- ممنوع إجراء التجارب الحقلية بواسطة افات نباتية مستوردة وممرضة.
- يجب منع حبوب اللقاح الخاصة بالنبات من الانتشار عن طريق ازالة الزهور.
- يجب أن تغطى الزهور قبل النضج إذا كان هناك حاجة للزهور فى إقامة التجربة.
- تصميم مناسب للعزل يجب أن يقام بحيث يتجنب انتشار الزهور الى مناطق أخرى قريبة.
- ممنوع الدخول فى المناطق المعزولة لغير المسموح بهم.
- يجب أن تتخذ احتياطات خاصة للتأكد من عزل النبات أو أجزاء منه عند الحصاد.
- يجب أن يكون محمى من دخول الحيوانات والحشرات عن طريق عمل أسوار محيطة بالمكان.

تقييم الظروف البيئية

تقييم الظروف البيئية تمثل:

- النتائج العلمية والمعلومات الأخرى من الهيئات الحكومية قبل اصدارها للسماح للاختبارات الحقلية والمحدودة والمرتبطة بالنباتات المهندسة وراثيا على أن تجرى فى نطاق اختبار ضيق.
- تقييم الظروف البيئية وتحليل النتائج للتأكد من أن المحاولة الحقلية ذات النطاق المحدود سوف لا تؤدى الى مخاطرة عند اجراءها وليس لها مغزى على نوعية البيئة البشرية.
- وذلك يتم تقييمه خلال ما يعرف بإيجاد صدمة ليس ذات أهمية. سوف تحدد ما اذا كان السماح يجب أن يصدر أو يمنح على عدة عوامل قليلة. وهناك مثال واضح فى المقطع رقم ٤.

(٤) نقط المحتواه المأخوذة فى الاعتبار

- هل الكائن الحى المهندس وراثيا له تأثير على المجتمعات النباتية معرض للخطر أو مهدد للكائن الحى والانسان وصحة النبات والحيوانات وكذلك على المصادر الوراثية (مثال قابيلة الأجناس الاقتصادية الهامة للمبيدات الزراعية أو المبيدات الحشرية ، أو الانتاج الزراعى).
- ما هى معدلات إمكانية الحياه للكائنات المحورة فى الحالات المتغيرة مثال وجودها فى المنطقة متحررة أو البيئة المحيطة.
- ما هى معدلات تكاثر الكائنات فى هذه المناطق؟ ما هى مقدرة الكائنات على الانتشار فى المنطقة المنتشرة منها؟
- ما هى مقدرة الكائنات على الانتشار خارج المنطقة الموجودة بها؟
- ما هى وسائل الانتشار؟ وما هى العواقب الناتجة عن وجود هذه الكائنات فى البيئة بعد الخطة أو الوقت المخطط له؟
- ما هى الطرق المستخدمة للتحكم أو التخلص من الميكروبات أو الكائنات الحية من المكان والبيئة المحيطة وهل هذا الاجراء مطلوب ؟ وما مقدرة أو كفاءة هذه الطرق؟

النبات: انتشار الجينات المهندسة وراثيا بواسطة حبوب اللقاح هو أحد الاهتمامات الرئيسية اخذين فى الاعتبار أن يكون التصميم التجريبى ومكانة وحالات الطقس كافية للحد من انتقال الجينات الى النباتات المتماثلة جنسيا.

الكائنات الحية الدقيقة المصاحبة مع النبات

- هل الكائن الحى قادر ليعبر عن نفسه فى أو على النوع الغير مستهدف فى البيئة المحيطة. الى أى مدى يمكن للكائن أن يعيش ويتكاثر على أو فى النبات المستهدف أو النباتات الأخرى فى المكان المختبر والبيئة المحيطة.
- هل الخصائص المحورة وراثيا يمكن أن تنتقل الى كائنات حية دقيقة أخرى فى البيئة.
- هل هناك أى تأثير على الكائنات الحية الدقيقة بالتربة والتى تعتبر نافعة للنبات (مثال ذلك الرايزوبيوم وفطريات الميكوريزا).
- هل تستطيع الكائنات الحية الدقيقة المهندسة وراثيا أن تنتشر بواسطة الرياح والماء والتربة والكائنات الحية المتحركة أو بطرق أخرى.

جدول(٦-١): المركبات الحيوية المسجلة وتحت التسجيل فى مصر حتى عام ٢٠٠٢

اسم المركب	صورته وتركيزه	المجموعة التابع لها	رقم التسجيل	الاستخدام
المبيدات الميكروبية البكتيرية				
أجرين	٦,٥% مسحوق	*B. huringiensis*	٨٥٠	مبيد حشرى
ايكوتك- بيو	١٠% مسحوق	*B. huringiensis*	٥١٩	مبيد حشرى
برونكتو	١٠% مسحوق	*B. huringiensis*	٥٤١	مبيد حشرى
دايبل- x٢	٦,٤% مسحوق	*B. huringiensis*	٥١٠	مبيد حشرى
زنتارى	٣% مسحوق	*B. huringiensis*	٥٦٩	مبيد حشرى
ريزو- ان	٣٠ مليون جرثومة/ جرام	*B. subilus*	٥٧٠	مبيد فطرى
المبيدات الميكروبية الفطرية				
بيو - فلاى	٣٠ مليون جرثومة/ جرام	*B. bassiana*	٥٣٤	مبيد حشرى
بيوسكت	٣٢ مليون جرثومة/ جرام	*B. bassiana*	تحت التسجيل	مبيد حشرى
بيوكانزا	٣٢ مليون جرثومة/ جرام	*B. bassiana*	تحت التسجيل	مبيد حشرى
بالانتا جارد	٣٠ مليون جرثومة/ جرام	*Trichoderma*	تحت التسجيل	مبيد فطرى
المبيدات الميكروبية البيوكيماوية				
الفرتميك	١,٨% مستحلب	ابامكتين	٤٦٦	مبيد اكاروسى
اسبينوساد	١,٨% مستحلب		تحت التسجيل	مبيد اكاروسى

جدول (٦ــ٢): المركبات الحيوية المستخدمة فى مكافحة الآفات والمنتجة فى مصر

المركب	المسبب المرضى	الشركة المنتجة
البروتكتو	*Bacillus thuringeinsis Kurstaki*	وحدة المبيد الحيوية- معهد بحوث وقاية النبات
الاجرين	*Bacillus thuringeinsis Egypti*	معهد الهندسة الوراثية- النصر للكيماويات الدوائية
بيوفار	*Beauvaria bassiana*	وحدة المبيدات الحيوية- معهد بحوث وقاية النبات
بيوكانزا	*Beauvaria bassiana*	شركة كانزا
البيوفلاى	*Beauvaria bassiana*	شركة النصر للأسمدة والمنتجات الحيوية
البيوسكت	*Beauvaria bassiana*	كفر الزيات للاسمدة والكيماويات
بيورانزا	*Metarihizium anisoplae*	وحدة المبيدات الحيوية - معهد بحوث وقاية النباتات
فيروتكنو	فيروس فراشة درنات البطاطس	وحدة المبيدات الحيوية- معهد بحوث وقاية النباتات
فيروسيت	فيروس دودة ورق القطن	وحدة المبيدات الحيوية- معهد بحوث وقاية النباتات
البلانتا جاردا	*Trichoderma spp*	شركة النصر للأسمدة والمنتجات الحيوية
التريكو	*Trichoderma*	الشركة الدولية للزراعة الحيوية

جدول (٦-٣): استخدام المركبات الميكروبية لمكافحة الأفات فى مصر

المركب الحيوى	الآفه	المحصول	معدل الاستخدام
اجرين	دودة ورق القطن دودة ورق القطن	بنجر السكر القطن	٢٥٠ جرام للفدان ٥٠٠ جرام/ فدان
بروتكتو	دودة ورق القطن دودة درنات البطاطس دودة البلح الصغرى (الخميرة) دودة ثمار العنب	بنجر سكر- القطن بطاطس (حقل ومخزن) نخل عنب	٣٠٠ جرام/ فدان ٣٠٠جم/ فدان، ١٥٠جم/ طن ٦٠٠جرام/ فدان ٣٠٠جرام/ ٤٠٠ لتر ماء
دايبل	دودة ورق القطن	قطن	٢٠٠ جرام/ فدان
نيمكس	ذبابة البصل الكبيرة	بصل (مخزن)	٥٠٠ سم^3/ طن
بيوفلاى	الأكاروس الأحمر العادى	قطن- بطيخ- فاصوليا	٢٠٠ سم^3/ ١٠٠ لتر ماء
فيرتيمك	الاكاروس الأحمر العادى	قطن - موالح	٤٠ سم^3/ ١٠٠ لتر ماء
ايكوتك - بيو	دودة ورق القطن	برسيم - بطاطس	٣٠٠ جرام/ فدان
دايبل	دودة ورق القطن	برسيم	٢٠٠ جرام/ فدان
نات- ١	الأكاروس الأحمر العادى	قطن - فراولة	١ لتر/ ١٠٠ لتر ماء

المحاصيل التى تطبق فيها المكافحة الحيوية

القطن – البطاطس – النخيل – قصب السكر – العنب – الفراولة – الموز – الموالح

رابعا: المخاطر البيئية للممرضات الحشرية المهندسة وراثيا

لقد أصبحت هناك قناعة أن الايكولوجية – الوبائية الحيوانية *ecology epizootiology* تعتبر مركز تطوير واطلاق الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا *(GEMs)*. لقد أصبح عنق الزجاجة التى تجابه هذه التكنولوجيا الوليدة ما يتمثل فى المشاكل والصعوبات المعملية وتلك المرتبطة بالصناعة. من أحد الأسباب الرئيسية للاهتمام المفاجئ فى النواحى الأيكولوجية ما يتمثل فى تقويم مخاطر هذه الوسائل. الخطر ما هو الا تقدير احتمالات وشدة الضرر أو التنبؤ بأرجحية بعض الأشياء توجه أو تتجه نحو الخطأ تحت مجموعة من الظروف. تقويم المخاطر *Risk assessment* هو عملية الحصول على مقاييس كمية ونوعية لمستويات الخطر.

هناك ثلاثة نواحى أو معايير بيئية كبرى حزل نشر الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا *GEMs*. الناحية الأولى تتمثل فى أنها تظهر خصائص وصفات غير متوقعة وخطيرة الضرر *deleterious* خارج المعمل. بعض العلماء معنيين بالاهتمام بأن الحمض النووى دنا المندمج يميز بشكل كبير عن المناورات الأخرى *manipulations* مما يؤدى الى حدوث مشاكل غير متوقعة كما هو الحال مع الددت. لقد خلص العلماء أن الجينات من أى كائن يمكن أن تعزل وتغرس فى أى كائن آخر. التبادل بين الكائنات ذات الاجناس المختلفة غير متنبأ بها. التبادل الوراثى فى الطبيعة يكون أكثر ميلا فى داخل الجنس الواحد. الطفرات المزدوجة والثلاثية والرباعية لا تحدث فى الطبيعة على الاطلاق. هذا بينما يمكن أن تنتج فى المعمل. الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا *GEMs* قد تكون ذات نشوء غير عادى بسبب التباين الوراثى المضاف وكذلك إمكانية المقدرة غير العادية على انعزالات التكاثر. الكائن المتلقى قد يصبح ممرض للكائنات غير المستهدفة *(NTO's)* وهذا واجب الاهتمام مع الممرضات الحشرية بسبب قصدها فى زيادة العنفوانية والمدى العوائلى والبقائية *Survivability* أو أنها قد تنقل الجين أو الجينات لكائنات غير ممرضة وجعلها مرضية *Pathogenic*.

يعتقد بحاث آخرون أن اطلاق الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا تكون أكثر قابلية للتنبؤ. النقد الموجه من قبل هؤلاء العلماء يتمثل فى أنه لا يوجد ضرر مرتبط بالحامض النووى دنا المرتبط عند العمل فى الجينات التى لا تعد ولا تحصى

innumerable فى العديد من أنواع الكائنات الحية أو فى مئات المعامل. لا يوجد دليل عن أضرار الكائنات ذات الدنا المندمج ولا يوجد دليل على أنها تختلف وراثيا عن تلك الكائنات غير المحورة أو تلك المحورة بطرق أخرى. لقد خلص الباحثين أنه على الأقل مع بعض أنواع "كائنات الأبوية يتم اضافة واحد أو قليل من الجينات الى ما يزيد عن عشرات الألاف ومع هذا يظل وبالضرورة الكائن الأبوى وقد يكون أكثر أمانا لأن الجين المضاف موصف جيدا ويغرس بدقة متناهية. الأكاديمية العلمية القومية *(NAS)* من خلال اللجان المختصة خلصت الى أن الكائن الذى ينطلق والبيئة التى يستهدفها وليست الطريقة التى يحور بواسطتها يجب أن تعتبر أساس تقويم المخاطر. الإستجابة الأخرى لبعض من هذه النواحى يتمثل فى أن اضافة المادة الوراثية الوظيفية ليست هى نفسها كما فى الخلل العشوائى ولو أنه قد تكون الطفرات العشوائية مفيدة وتستخدم فى برامج التربية النباتية. للإجابة عن موضوع المرضية على الكائنات غير المستهدفة *NTO's* ذكر أن جين واحد لا يمكن أن يحدث اختلافات كثيرة. المرضية تنتج من سلسلة من الخصائص ومن ثم خلال أكثر من جين واحد. التبادلات بين الكائنات بعيدة الارتباط تميل أن تكون أقل ضررا لأن جين واحد لا يستطيع احداث اختلاف كبير فى تغيير الكائن غير الممرض الى ممرض أو زيادة اللياقة فى البيئة.

المرتبة الكبرى الثانية ذات الاهتمام تتمثل فى أن نشر الكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا *GEM* قد تسبب خلل أيكولوجى. الانتقادات ضد النشر تتمركز حول أن الكائن المنشور سوف لا يكون قابل للتنبؤ فى البيئة وقد يصبح هو نفسه آفة. الادخالات السابقة فى الولايات المتحدة الأمريكية شملت الفراشة الغجرية (بورتيترا ديسبار) والزرزور (ستيرنوس فالجاريس) وعنب الكودزو (بيوريريا لوباتا فى جنوب شرق آسيا) أحدثت خلل. بعض من هذه الوافدات أحدثت تلف شديد حيث أشار الباحثين الى أن ٧١ وافد من ضمن ٨٥٤ سببت اختفاء الأنواع الأصلية المتوطنة وهذه مثلت واحدة من أكبر المشاكل المؤثرة. فى دراسة أخرى خلص الباحثون الى أن ٧٥% من الحيوانات المتوطنة سببت مشاكل كآفات عادة فى أماكن أخرى بخلاف الأماكن المستوطنة فيها أو فى الأماكن التى كان يعيش فيها السلف أو الأجداد *ancestors*. من بين الثمانية عشر حشيشة على مستوى العالم والتى وصفت بأنها الأسوأ لم تستخدم واحدة فقط فى الزراعة. الميكروبات المهندسة وراثيا *GEM* قد تصبح أنواع سوبر طاغية *Super species* مع نظم بقاء جديدة ومميزات جديدة وكذلك حتى مع تغيير فى واحد أو قليل من الجينات. الأمثلة تشمل سلالات الانفلوانزا الفيروسية ومقاومة

الحشرات والبكتريا للمبيدات والمضادات الحيوية على التوالى. فى الانتقادات الموجهة على وجه الخصوص للممرضات الحشرية ما يفيد بأن الاستخدام الواسع للوسائل الثابتة والقاتلة تؤدى الى نشوء المقاومة فى أنواع الآفات المستهدفة وغيرها وهذه من أوجه النقد الذى يواجه استراتيجيات النشر للكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا والتى يبدو أنها تصمم لتحفيز المقاومة.

الآراء التى فى صالح نشر هذه الكائنات تتمثل فى أن النظام الزراعى مبنى على الادخالات الجديدة *"novel introductions"*. لقد لوحظ تغيير كبير فى مجموع الأحياء والكائنات ولكن هذا التغيير يعكس التغيرات فى البيئة بدرجة تفوق أو بسبب الكائن الدخيل أو المدخل. فى العادة يكون من الصعوبة بمكان لتوطين واستقرار نوع دخل ولو أن هذا صعب التقدير حيث أن الفشل نادرا ما تمت الاشارة اليه. أحد التقديرات أظهرت أن النسبة ١: ١٠٠٠ وحتى ١: ١٠٠ من الادخالات أدت الى احداث غزو مدمر. الكائنات قادرة على البقاء كما أنها تتمتع بتاريخ طويل عن الأمان. العديد من العموميات العامة ليست مناسبة حيث أن بعض الآفات الدخيله لم تكن متعمدة الادخال، إذا كان الدمج *recombinant* قد أعيد إدخاله فى المنطقة الأصلية أى موطن الآباء إن هذا لا يكون مرادف لادخال الأنواع غير المتوطنة وأن الغزوات الناجحة تكون محدودة.فى معظم الأحوال على الكائنات ذات الاقتدار التناسلى العالى ومعدلات انتشار واسعة ومناطق أيكولوجية عريضة. النظم البيئية الأكثر تعقيدا تكون أقل حساسية للغزو. فيما يتعلق بالنقد الموجه عن الأنواع السوبر فان احتمالات أن التغير الوراثى العشوائى سوف ينتج نوع سوبر قليلة جدا حيث أن الكائنات الحية تتحدد عن طريق البيئة وليس من خلال نقص جين أو مجموعة صغيرة من الجينات. على غرار الهجن فان الميكروبات المهندسة وراثيا تكون ذات لياقة أقل. أعباء الطاقة وأحمالها فى تخليق جزيئات عملاقة اضافية واحداث خلل فى العمليات الطبيعية سوف تقلل من اللياقة. الانفلوانزا والأنواع المقاومة تمثل تغيرات وراثية ذات تخصص عالى جدا والتى تختلف عن تلك التى أضيفت بواسطة الانسان.

المرتبة الكبرى الثلاثة الكبرى من الاهتمام تتمثل فى النقل غير المتعمد للمادة الوراثية الى الكائنات الأخرى. اذا حدث ذلك فان المرتبتان الأولويتان من الاهتمام تبرز مرة أخرى على السطح: المتلقى غير المقصود ويصبح ذات مواصفات غير مرئية (مثل المرضية فى الكائن غير الممرض) أو قد يسبب خلل أيكولوجى. يوجد دليل مغاده أن النقل الوراثى قد يحدث. الاقتران *Conjugation transduction* والتحول

transformation يحدث بين البكتريا وربما يحدث ذلك بتكرارية أقل فى الحقل عما هو الحال فى المعمل. توجد حواجز لهذا النقل فى الحقل مثل تركيزات الكائنات الدقيقة لا تكون عالية بما فيه الكفاية كا أنه لا توجد الأنواع أو السلالات المناسبة وكذلك الحواجز التى تجابه التعبير ولكن هذه الحواجز يتوقع أن تحدد ولا توقف *halt* هذه الانتقالات.

من جهة أخرى فان الانتقالات المعروفة للجين بين الكائنات شديدة الاختلاف لا تؤدى الى ظهور أنواع سوبر ولكنها فى العادة تضع المتلقى فى مصاعب العديد من العيوب. أظهرت الأبحاث الماضية أن نقل شرائح كبيرة من المادة الوراثية نادرا ما تدوم فى المجموع الا اذا كان هناك ضغط انتخابى قوى. البيئة الجديدة أو البيئة المتغيرة هى التى تسبب فوران المجاميع. حتى لو كانت جينات المرضية على عناصر جينية متحركة فانه تكون هناك احتمالات قليلة للنشر *dissemintion* الى البكتريا القريبة مع ترتيب الجينات فى اتجاه المرضية و أو حتى احتمالات قليلة للنقل الى أنواع غير قريبة مع هذا الترتيب والتنسيق.

الأضرار المؤثرة من استخدام الممرضات الحشرية المهندسة وراثيا يجب أن تتوازن مع الفوائد. فى الأساس فان الهندسة الوراثية يتوقع أن تكون السند فى المكافحة الميكروبية للحشرات ومن ثم تقلل من الأضرار أو التأثيرات الجانبية الضارة المرتبطة بالمبيدات الحشرية الكيميائية (أرجو المعذرة عن وضع هذه العبارات بالإنجليزية).

The potential hazards of using genetically engineered entomopathogens must be balanced against the potential benefits. Basically, genetic engineering is expected to bolster microbial control of insect and thus reduce the array of hazards or harmful side effects associated with chemical insecticides.

لا توجد تكنولوجيا مفردة تغطى كل نواحى تقويم المخاطر للميكروبات المهندسة وراثيا *GEM's*. يمكن استخدام ثلاثة أنواع فقط من الدراسات قبل السماح والموافقة على نشر هذه الكائنات وهى اجراء التجارب المعملية على هذه الكائنات *GEM*، نشر هذه الكائنات فى نظام بيئى دقيق وصغير *microcosms* وكذلك دراسة بيولوجية وأيكولوجية الكائنات الدقيقة الأبوية. نتائج هذه الانواع الثلاثة من الدراسات لا تمكن من الاستقرار الذى يمكن من وضع استنتاجات جيدة أو اجراء تنبؤات حول النشر

الفعلى للميكروبات المهندسة وراثيا ولذلك يكون من الأهمية اكتمال وإجراء هذه الأنواع الثلاثة من الدراسات لتقليل خطورة الاستقراءات. مثال ذلك الأراء الكثيرة فى صالح اللجوء الى البيئات الدقيقة لدراسة مصير الميكروبات المهندسة وراثيا لكن مصير هذه الميكروبات *GEM* التى تنشر فى البيئة ولو أنه من أحد العوامل المحددة فى تقويم المخاطر الا أنه يتاثر بالعديد من العوامل المعقدة كما أن تداخلاتها تتضاعف فى البيئات الدقيقة.

احتمالية الضرر البيئى ما هى الانتاج ستة احتمالات: الاطلاق والبقاء والتضاعف والانتشار ونقل المعلومات الوراثية والضرر. العديد من هذه (البقائية – التضاعف – الانتشار) من الخصائص الايكولوجية الهامة للكائن.

The probability of environmental is a produc of six probabilities: release, survival, multiplication, dissemination, transfer of genetic information, and harm. Several of these (Survival, multiplication, diseminaion) are ecologically important characteristics of an organisms.

لذلك فإن أيكولوجية الممرضات الحشرية هى التى بمثابة الأبوية للميكروبات المهندسة وراثيا *GEM's* خاصة ما يتعلق بالبقائية والانتشار ونمو المجموع ذات أهمية فى منظومة تقويم المخاطر. هذه المعايير الأيكولوجية تم استعراضها حديثا للاطلاق الصناعى للفيروسات والبكتريا والفطريات. ثبات الممرضات الحشرية بوجه عام تقاس فى وحدات الايام عندما تبقى معرضة لضوء الشمس، أو لبعض العوامل البيئية الأخرى. الفيروسات *Baculoviruses* تميل للثبات اذا وصلت الى الأرض. الانتشار ونمو المجموع بعد الاطلاق يتفاوت ويعتمد علىٰ عوامل مثل النشر وأماكن المعيشة والعنفوانية. المجموع المدخل يستطيع أن يبقى موضعيا ويتناقص أو ينتشر فى مناطق واسعة. البكتريا ثابتة كذلك فى التربة ولو أن البيانات المتوفرة توضح أن بكتريا باسيلليس بوبيليا فقط وعرضيا *B* سفيريكس تنمو بعد الاطلاق ولا يوجد بكتريا معروف عنها المدى الطويل من الانتشار. الفطريات تستطيع البقاء ثابتة لشهور أو من ١– ٢ سنة فى التربة أو جثث العائل. البيانات الخاصة بالانتشار ونمو المجموع متوفرة ولكنها غير مفهومة جيدا ومن ثم فإن انتقال الكونيديا بواسطة الرياح تعطيها مقدرة عالية على الانتشار والتوزيع. لقد تم نشر قليل من النماذج عن الوبائية الحيوانية العامة والنظم الخاصة بالعلاقة بين العائل والممرض فى الممرضات الحشرية ولكن لا يوجد نموذج

واحد منها مناسب للتنبؤ بمصير الممرض الذى تم اطلاقه. المعلومات الموجودة فى الدراسات المرجعية شديدة التحيز فى اتجاه نجاحات الادخالات. هذه المعلومات تمثل قدرات هذه الكائنات وليس احتمالات ما سوف يحدث بعد الاطلاق.

البيانات المتعلقة بالتأثيرات على البيئة بعد اطلاق الممرضات الحشرية نادرة ولكنها لحد ما تتشابه مع المجموعات المرضية الثلاثة. التأثيرات الكبرى تعكس الغرض من الاطلاق: زيادة أعداد وحدات الممرض فى البيئة ونقص أعداد العائل – الحشرة والتلف والضرر على النباتات أو المصادر الأخرى. اللجوء للنشر العريض للممرض أو التوكسين يميل الى تحفيز المقاومة فى مجاميع العائل فى العديد من الحالات وليس فى كل الحالات ومن ثم يوجد مثال واحد فقط من المكافحة الميكروبية للحشرات. عزلات الفيروسات والبكتريا التى أختبر ت حديثا لم تسبب ضرر مباشر على الكائنات غير المستهدفة. بعض العزلات الفطرية تسبب تفاعلات حساسية وقد تحدث عدوى فى بعض الزواحف وفى بعض مفصليات الارجل غير المستهدفة ولكنها تعتبر آمنه بشكل كبير جدا. لقد نشر أن الفيروسات والبكتريا تسبب أضرار غير مباشرة على أشباه الطفيليات اللافقارية والمفترسات كذلك من خلال ازالة مصادر غذائها وهى الحشرات العائله ولكنها نادرا ما تسبب تأثير شديد كما هو الحال مع المبيدات الحشرية على مجاميع مفصليات الارجل النافعة.

لذلك فانه من الواضح أنه اذا كانت الميكروبات المهندسة وراثيا *GEM* مشتقة من الممرضات الحشرية الأبوية هذه واذا لم يكن مقصودا و/أو قدراتها فى بعض النواحى انها ستكون ذات مقدرة على البقاء والتضاعف والنشر. بناء على هذه الدراسات السابقة فقط يصبح من الصعوبة تقدير احتمالية البقاء والتضاعف والنشر حتى مع الكائنات الأبوية ومن ثم يكون متاح القليل من الاستقراء للتنبؤ بما سوف يحدث مع الميكروبات المهندسة وراثيا. بالاضافة الى ذلك فانه قام البعض بإضافة النقل الوراثى والضرر الى تقويم المخاطر يصبح من الواضح أهمية وضرورة تقييم الاطلاق وجدواه ومحدداته على أساس حالة– حالة حتى يتم اكتساب الخبرات عنها.

فى الوقت الراهن يوجد وضوح رؤية وجدوى عن الاقتراب النوعى أو الوصفى لتقويم مخاطر الميكروبات المهندسة وراثيا ولا يوجد هذا الوضع مع الاقتراب الكمى. أية محاولات مع التنبؤ يجب أن تؤخذ كنوع من التقريب. المخاطر فى المستقبل القريب يجب أن تحدد من خلال أراء الخبراء فى هذا المجال. لن نستطيع أن نتنبأ بالمخاطر من خلال الاحصائيات المتعلقة بالوفيات السابقة أو أية مشاكل أخرى

كما حدث مع وفيات حوادث السيارات أو السرطان أو حتى من مخاطر مدينة تحطمت بفعل النيازك والشهب *meteorite*. هذا بينما الاقوال الوصفية تكون كافية لتقويم المخاطر.

بشمول عريض هناك ادراك أن الميكروبات المهندسة وراثيا *GEM's* فيها احتمالات قليلة لاحداث الأضرار البيئية ولكنها ذات تتابعات خطيرة اذا حدث ضرر فيها. لا يمكن تحقيق صفر الخطر *Zero risk* فى المستقبل المنظور القريب. من جهه اخرى لا يستطيع المجتمع الاصرار على تحقيق صفر الخطر فى هذا الاقتراب حيث أنه لم يقوم بذلك مع الاقترابات الأخرى. يجب اتخاذ الحذر والعناية فى تقويم مخاطر الميكروبات المهندسة وراثيا خاصة من منطق الخبرات التى اكتسبت مع الحالات الابتدائية. ولكن اذا اتخذت الاحتياطات ان معظم الادخالات ستكون ذات أخطار بيئية قليلة على البيئة.

REFERFNCES

Alexander, M., Spread of organisms with novel genotypes, in Biotechnology and the Environment, Teich, A. H., Levin, M. A., and pace, J. H., Eds., American Association for the Advancement of Science, Washingon, D. C., 1985, 115.

. Brill, W. J., Why engineered organisms are safe, Issues Sci. Technol., 4, 44, 1988.

. Florio, J. J., Regulation in biotechnology, in Biotechnology. Implication for public policy, Panem, S., Ed., The Brookings Instiuation, Washingtonm D. C., 1985, 41.

. Fuxa, J. R., Fate of released entomopathogens with reference to risk assessment of genetically engineered microorganisms, Bull. Entomol. Soc. Am., in press.

. Levin, S. A., Safety standerd for the environmental release of genetically engineered organisms, in Planned Release of Genetically Engineered Organisms (Trends in Biotechnology/ Trends in Ecology and Evoluation Special publication), Hodgson, J. and Sugden, A. M., Eds., Elservier, Cambridge, 1988, S47.

. National Academy of Sciences, Inroduction of Recombinant DNA-Engineered Organisms into the Environment: Key Issues, National Academy Press, Washington, D. C., 1987.

. Regal, P. J., Models of genetically engineersd organisms and their ecological impact. in ecology of Biological Invasions of North America and Hawaii, Mooney, H. A. and Drake, J. A., Eds., Springer- Verlage, New York, 1986, 111.

. Williamson, M., Potential effects of recombinant DNA organisms on ecosystems and their components, in Planned Relaese of Genetically Engineered Organisms (Trends in Biotechnology/Trends in Ecology and Evalution Special Publication), Hodgson, J. and Sugden, A. M., Eds., Elservier, Cambridge, 1988, S32.

خامسا: استخدام التكنولوجيا الحيوية فى مكافحة الآفات باستخدام مستحضرات باسيلليس ثورينجينسيز

من مقاله للأستاذ الدكتور عادل مردان- كلية العلوم جامعة عين شمس- مصر. استخدام الوسائل الحيوية فى مكافحة الافات معروفة وموروست منذ فترة طويلة. لقد استخدم الصينيون النمل الفرعونى فى مكافحة الآفات فى مخازن الحبوب المخزونة لقد كانت تجلب طيور المياه *Mynah* الى موريشيوس عام ١٧٦٢ لمكافحة الجراد الأحمر كما استخدمت الكلاب وغيرها من الحيوانات الأخرى لمكافحة الحشرات والقوارض. القطط الأليفة التى كان يعتقد أنها من أول الوسائل فى المكافحة الحيوية لعبت دورا كبيرا فى مكافحة الفئران والتى كان انتشار طاعون البابونى فى أوربا فى العصور الوسطى كما كانت تأثيراتها على الكائنات غير المستهدفة غير متوقعة وفى هذه الأزمنة لم تكن هناك اختبارات مطلوبة للتسجيل. استخدام الكائنات الدقيقة كمبيدات ظهر حديثا وأثبت بعض النجاحات. فى الوقت الراهن يوجد عدد من أنواع البكتريا والفطريات والفيروسات طرحت فى الأسواق كمبيدات تجارية بعد نجاح الانتاج وتجهيز المستحضرات. البكتريا من الوسائل الواعدة فى هذا الخصوص. لقد وصف أكثر من ٩٠ نوع من البكتريا تصيب الحشرات. معظم هذه الأنواع تخص عائلات *Pseudomonad acea, Enterobacteriaceae, Bacillacease, Micrococcuseae, Lactobacillaceae*. غالبية السلالات التجارية تنتمى الى الجنس *Bacillus* ومعظم المنتجات الواسعة الاستخدام جهزت من الباسيلليس ثورينجينسيز *(B. t.)* وفيها ما يزيد عن ٢٢ طرز سيرولوجى (يتميز بوجود الانتيجين السوطى). أعضاء هذه المجموعة سامة لحشرات حرشفية وثنائية وغمدية الأجنحة. لقد أكتشفت بكتريا *B.t.* فى ديدان الحرير فى اليابان فى بداية القرن العشرين. لقد أنتج أول مركب تجارى فى فرنسا عام ١٩٣٥ وكان يعتمد على توكسين خطر على الانسان كذلك سمى البيتا- اكسوتوكسين. لقد تم تطوير طرق مختلفة لازالة هذا التوكسين من المنتج النهائى عن طريق تجهيز عملية التخمر. لقد قام *Dulmage* بعزل بكتريا *Bt* سلالة *HD-1* وهى سلالة *Bt* كورستاكى خالية من التوكسين الخارجى والذى يمثل الأن المادة الفعالة لمعظم السلالات التجارية من بكتريا *Bt* المستخدمة ضد حشرات حرشفية الأجنحة.

بالرغم من المعلومات المتوفرة عن كفاءة مستحضرات *Bt* تحت الظروف الحقلية الا أنه ما زالت هناك قيود لاستخدام المستحضرات البكتيرية الموجودة فى

مكافحة اليرقات للعديد من الحشرات. من أحد القيود الكبرى صعوبة اقناع رجالات الصناعة لتطوير مستحضرات محسنة كاقتراب ثانى حيث أن سوق *Bt* ما زال صغيرا حيث أنه يمثل ما يزيد قليلا عن ٠,١% من السوق العالمى للمبيدات ولو أن هذه القيمة تمثل ما يزيد عن ٩٠% من كل مبيعات المبيدات الميكروبية. للتغلب على هذه الصعوبة الى جانب القيود الأخرى مثل قدرة الانتشار، مثابرة وقوة البحث عن العائل ومعدل التضاعف، العنف والثبات فى الحقل، طرق وتكاليف الانتاج وكذلك مقاييس الامان الحيوى فان استخدام التكنولوجيا الحيوية لتطوير وسيلة مبشرة تعتمد على بكتريا *Bt* تبدو هى الحل. الهدف الحالى لاستخدام التكنولوجيا الحيوية توجيه المفاهيم العلمية والتكنولوجية مع التركيز على تطوير استراتيجيات للبيولوجيا الجزيئية فى مكافحة الأفات. لقد أدى نجاح استخدام العديد من التحضيرات الميكروبية ضد الافات المستهدفة الى تحفيز البحوث الفعالة فى اتجاه استخدام الكائنات الحية فى استراتيجيات الادارة المتكاملة للأفات على المدى الطويل. الكائنات الميكروبية المهندسة وراثيا أصبحت فى المتناول كما تم تطوير تكنولوجيا جديدة للانتاج الكبير لهذه الميكروبات. لقد أصبح من الممكن تخليق الجزيئات البيولوجية عن طريق زرع جينات خاصة فى مختلف أنواع الكائنات الدقيقة. من أكثر الاستخدامات الملفتة للنظر والاثارة فى اتجاهات الهندسة الوراثية،ما تتمثل فى تصنيع توكسينات بكتريا *Bt* باستخدام البكتريا كمصانع. نواحى ومنظور استخدام طرق الهندسة الوراثية فى بحوث مكافحة الأفات قد تبدأ فى ثلاثة اتجاهات هى الحشرات والوسائل الميكروبية والنباتات العائلة.

١ـــ الحشرات

دراسة كيفية احداث الفعل على المستوى الجزيئى وفهم أسباب تخصصية التوكسينات على الحشرات المختبرة والعلاقات الخاصة بالتركيب والوظيفة وتمثيل التوكسين. تصميم الحصول على ممرضات ميكروبية فعالة تتطلب فهم كامل وواعى لكيفية احداث بكتريا *Bt* للفعل والتأثير وكذلك لتوضيح كيف تتداخل مع الحشرة المستهدفة والبيئة. من الأمثلة الأخرى لنواحى المناورة بجين التوكسين الحشرى فى مكافحة الأفات ما يضطلع بتقليل أو منع تطور المقاومة تجاه المبيدات الحشرية البكتيرية وغيرها من الكيميائيات السامة. من المعروف جيدا ان الكائنات الحية تقاوم تأثيرات المواد السامة عن طريق التوكسينات من الوصول الى المواقع المستهدفة أو بواسطة تحوير الموقع بما يحقق خفض حساسيته للتوكسين. تمثيل المواد السامة تعتبر من التقنيات الشائعة لمنع السم من الوصول الى الموقع المستهدف. العلماء فى الوقت

الراهن قادرون على كلونة الجين التى يتحكم فى تخليق المقاومة فى الحشرات ومن ثم مساعدتها فى فهم كيفية عمل الجين.

٢- الممرضات الحشرية للباسيلليس *Enomopahogens (B.t.)*:

(١) المباشرة:

البيولوجيا الجزيئية تقدم امكانية ليس فقط تحسين اداء هذه الممرضات الطبيعية بما يجعلها أكثر ملائمة مع أهدافها ولكن أيضا تحويل الميكروب غير الممرض الى ممرض مما يقدم أسلحة جديدة فى الترسانة ضد الآفات الحشرية. ان ادخال جينات توكسين *B.t.* فى البكتريا *E.colic* سوف يخدم فى الانتاج المكثف للتوكسين بالاضافة الى دراسة تداخل التوكسينات المختلفة ومكان احداث الطفرية من وجهة النظر الاكاديمية. نقل التوكسينات بين العوائل المختلفة المعتمدة على الباسيلليس سوف تقدم لنا خدمات أفضل فى الحقل ومن ثم يتحقق مدى واسع لبكتريا *Bt* فى بكتريا قادرة على المعيشة والثبات وربما اعادة التدوير فى البيئة. الامل معقود على رؤية حدوث تنشيط وتطوير أنشطة جديدة ضد اليرقات. استخدام نفس الهدف مع دمج البروتوبلاست قد يتطلب نظام للتقسيم (التسمية) للمواد المندمجة. يجب أن يكون فى الأذهان أننا لم نفهم بعد كل النقاط الخفية فى توازن مجاميع الحشرات الى جانب المناورات المعملية. البحث عن سلالات جديدة خاصة فى الدول الاستوائية أو النامية يجب أن تستمر وتتواصل.

لقد أمكن تطوير وتحقيق تقدم فى التقييم الحيوى للبلورات المختلفة باستخدام طرق زراعة الانسجة. خلايا أنسجة الحشرات تعتبر من النظم الصالحة كنموذج لدراسة الاستجابة السامة للبروتين المنشط من بلورات بكتريا *B.t.* لقد تم كلونة جينات العديد من توكسينات *Bt* وتكرارها والتعبير عنها فى البكتريا كما تم تعريف أدنى تتابع وراثى مطلوب لتشفير بروتين التوكسين كامل الفاعلية. المسرح مهيأ الان للهندسة الدقيقة لتوكسينات *Bt* أكثر كفاءة وفاعلية. لذلك ان الجرعات الاصغر يمكن أن تستخدم فى الحقل لتقليل التكاليف العالية لاستخدام المركب فى الوقت الراهن وتوسيع المدى العوائلى وتحقيق أمان أكثر للكائنات الحية غير المستهدفة وتسهيل الانتاج التجارى وتحقيق الثبات المطلوب تحت الظروف الحقلية كذلك ان رجالات البيولوجيا الجزيئية يقومون بنقل توكسين *Bt* فى التحول النباتى وهو غالبا ما يكون تحول اتجاه المقاومة بواسطة اقتراب الاجروباكتيريوم بالاضافة الى التحول هناك تحدى آخر يتمثل فى أن نتعلم كيف يفيد تخليق نباتات ناضجة من الخلايا المتحولة الى البروتوبلاست. فى

الوقت الحالى يوجد نماذج نباتية جيدة يمكن أن تستخدم لوضع استراتيجية للهندسة الوراثية بغرض مكافحة الآفات. الادخال الناجح لجينات توكسين بكتريا *B.t.* فى البسيدوموناس غير المرضية ومن ثم تحويلها الى وسيلة ميكروبية جديدة فعالة ضد حشرات حرشفية الأجنحة.

(٢) غير مباشرة (الكلونة فى وسائل تكافلية *Symbiotic* أو غيرها:

من الاقترابات المفيدة والفعالة بشكل أكبر لتوكسينات *Bt* ذات الفعل الإبادى على الحشرات ما يتمثل فى إدخال والتعبير عن جين التوكسين فى خلايا الخميرة. يحدونا الأمل فى أن تكنولوجيا دمج *DNA* سوف تؤدى الى انتاج مواد سامة فى البكتريا المناسبة قادرة على التغلب على كل مشاكل وعقبات الوسائل الموجودة حاليا فى المكافحة الميكروبية مثل عدم الثبات تحت الظروف الحقلية وفقد النشاط الممرض بسبب التعرض للتشعيع. الدلتا- اندوتوكسين من السلالات البكتيرية المتخصصة ضد حشرات حرشفية الأجنحة تعتبر فى الوقت الراهن من أكثر المبيدات الميكروبية التى درست بكثافة وأختبرت على سلاسل كبيرة من أنواع حرشفية الأجنحة. التقييم المناعى مع الأجسام المضادة عديدة وأحادية الكلونة أوضح أن الببتيدات العديدة متميزة التراكيب للمعلم *Mr 130-140* يمكن أن توجد فى سلالة فردية. البروتينات تتحول من خلال التحلل المائى. مجسات *DNA* والبلازميد استخدمت لتوضيح أن الجينات التى تتحكم فى تغليف وإنتاج البللورات تقع على عدد صغير من البلازميد ذات الوزن الجزيئى العالى. البروتين السام تم كلونته فى بكتريا *B.subtilis* , *E. coli* وتم التعبير عنه خلال مرحلة النمو الخضرى.

لقد أمكن دمج أو خلط البروتينات من السلالات المختلفة ومن ثم توسعت دائرة نشاط السلالة المندمجة. السلالات الجديدة كلية وجدت ذات فاعلية ضد مجاميع اضافية من الحشرات مثل غمدية الأجنحة المعدية بالبكتريا *Tenebrionis B.t.* والصنف سان ديجو. التعبير الأولى لهذه السلالات اشتملت على كلونة والتعبير عن جين التوكسين فى بكتريا *E. coli* وقد خلص الباحثون الى أن تكنولوجيا مضاهات الوراثة الجزئية يمكن أن تتواصل لتشمل الدنا التى تحتوى على انتاج النيوكلوتيد المشفر لبروتين التوكسين فى بكتريا *B.t. s.d.* بهدف انتاج الجينات الجديدة التى يحسن من صفات النسيج والترجمة وتشفير البروتين بما يزيد من السمية أو تغيير خصائصية المدى العوائلى. لقد أمكن عزل العديد من الجينات للبروتين السام كما تم تحديد تتابع الحمض الأمينى للموقع الفعال للبروتين من تتابع الدنا المتتابع للجين وتحديد تركيب البللورة. كيفية الفعل

على المستوى الجزيئى لم يثبت بعد ولكن المستقبلات مثل الفوسفات تبديل كولين و ن-استيايل جالاكتوسامين قد تكون هى الموقع المستهدفة للتوكسين. لقد تمت الاشارة الى امكانية استخدام رسوم الحاسب الآلى لعمل نموذج التداخل بين التوكسين والمستقبلات فى الحشرات والتى تؤدى الى التنبؤ بتراكيب البروتين ذات الابادة على الحشرات. بعد موضة التركيب الثانوى والثلاثى للبروتين وصف الموقع الفعال وهذا يؤدى الى التعود على استخدام المبيدات الحشرية الحيوية. طرق التكنولوجيا الحيوية الجديدة قد تحدث اسهام من خلال زيادة الكفاءة عن طريق تحوير تكامل بلازميد البكتريا التى تكافح تخليق البروتين. هذا يقلل من تكلفة الانتاج ويحقق ويفتح مجال للمستحضرات الجديدة سهلة الاستخدام كبديل فان انتاج السلالات التى لا تكون جراثيم *asporogenic* قد تقلل من تكاليف الانتاج عن طريق تفادى طاقة التمثيل الضائعة فى انتاج الجراثيم بجعل المنتج أكثر قبولا فى بعض الدول.

على المدى القصير قد يمكن تطوير منتجات تستهدف مواضع متخصصة أكثر. فى عام ١٩٨٥ نجحت شركة ساندوز فى الاختبار الحقلى لمركب جديد تحت الاسم *Javelin* وهو مبنى على سلالة *NRD-12, a3A3B* والتى أكتشفت بواسطة *Norman Dubois* فى شركة خدمات الغابة الأمريكية. بالرغم من أن السلالة كانت قد أكتشفت وتم توصيف خصائصها وتأثيراتها المتزايدة ضد الفراشة الغجرية فإن التأثيرات المحسنة للجافليلين كانت ضد دودة ورق القطن وهى آفة تضر بالخضروات وفى بعض البلدان التى تزرع القطن. بعض المنتجات الجديدة لمكافحة حشرات غمدية الأجنحة التى تتكون من السلالتين المذكورتين أعلاه وجدت مجالا فى الأسواق المختلفة خاصة لمكافحة خنفساء كلورادو البطاطس.

(٣) النباتات المحصولية *Crop plants*:

النباتات المهندسة وراثيا المقاومة للحشرات قد تشهد اليوم الذى يثبت فيه امانها وتعتبر البديل الأمن والرخيص لاستخدام الكيميائيات التوكسينية فى مكافحة الحشرات. ان تطوير ناقلات ذات أصغر بلازميد *Ti* يحتوى على معلمات منتخبة متعددة السيادة ومواقع مكلونة وكذلك محفزات أو بادئات فعالة واشارات *A* العديد ذات تيار متدفق من اجربكتريوم تعول التحول النباتى في الطرق الاضافية تشمل الحقن الدقيق والتثقيب الكهربى وتحفيز الجسيم قد يجعل من الممكن تحقيق التحول النباتى وهو غالبا ما يكون تحول اتجاه المقاومة بواسطة اقتراب الاجروباكتيريوم بالاضافة الى التحول هناك تحدى آخر يتمثل فى أن نتعلم كيف يفيد تخليق نباتات ناضجة من الخلايا المتحولة أو

البروتوبلاست. فى الوقت الحالى يوجد نماذج نباتية جيدة يمكن أن تستخدم لوضع استراتيجية للهندسة الوراثية بغرض مكافحة الآفات. الادخال الناجح لجينات توكسين بكتريا *B.t.* فى الدخان تؤدى الى الحصول على نباتات عادية مقاومة لدودة قرون الدخان.

عامل الخطر فى المبيدات الميكروبية المهندسة وراثيا *Risk Factor*:

عند اختبار وتقييم الخطر المرتبط بهذه المبيدات يكون ممكنا تعريف مجموعة من العوامل العامة التى قد تساهم فى حدوث الخطر. بسبب أن كل مركب ونظام استخداماته محددة ومميزة فان عوامل الخطر هذه يجب أن تؤخذ فى الاعتبار على أساس كل حالة بمفردها *Case- by- case basis.* احتراما للتشريعات والاختبارات المسبقة للمبيدات الميكروبية التى عرفت قبلا.

١- بسبب الطبيعة الأساسية الوراثية كمبيدات للافات فان هذه الكائنات مرجو منها ان تكون ذات نشاط بيولوجى. هذه المنتجات قد تكافح الآفات عن طريق طرق مختلفة من الفعل مثل: القتل – احداث المرض – المنافسة أو الاحلال – منع التغذية – تثبيط النمو – التأثيرات المعاكسة على التناسل. علاوة على ذلك فان الكائنات الدقيقة تصمم للاستخدامات البيئية والتى يمكن أن تستخدم على المحاصيل الغذائية والغابات أو المراعى وكذلك فى مكافحة ناقلات الامراض وبالقرب من أماكن السكن. لذلك فان التعرض للكائنات غير المستهدفة والانسان قد يكون كبيرا.

٢- على خلاف المبيدات الكيميائية فان الميكروبات تعيش فى الكون حيث تستمر فى الحياه وتتضاعف. بمجرد أن تنطلق فى البيئة فان المنع الكامل أو المطلق لانتشارها يصبح غير ممكنا. لذلك فانه قبل اطلاق الميكروبات المهندسة وراثيا فان مقدرتها على التكيف وايجاد أوساط بيئية جديدة أو المقدرة على المنافسة مع غيرها من الكائنات الدقيقة فى البيئة يجب أن تقيم بعناية. أى تقييم للتأثيرات البيئية يجب ان تؤخذ فى الاعتبار من حيث المستويات المتوقعة لقواعد الكائن فى البيئة بالاضافة الى نمذجة تمكن من التنبؤات العقلانية عن تأثيرات الظروف البيئية غير العادية وتأثيرها على الزيادات المحلية او الانفجار فى مجموع الميكروبات.

٣- أى نظام اختبار لتوصيف الميكروبات المهندسة وراثيا أو تقييم تأثيراتها على أو التعرض للكائنات غير المستهدفة فى بيئة أو وسط جديد يمكن أن تؤدى الى تتابعات غير متوقعة. لذلك فان السيناريو الايكولوجى لأى تطبيق مقترح للكائنات

المهندسة وراثيا يجب أن تقيم بعناية باستخدام الاقترانات من فروع المعرفة المختلفة.

٤- بعض أنواع الناقلات المهندسة وراثيا ذات احتمالات عالية للنقل الوراثى. مثال ذلك التحول مع مدى واسع من العوائل تعتبر من العناصر الوراثية للحركة الكروموسومية والتى تمكن من تسهيل النقل من كائن لآخر. هذا قد يؤدى الى حدوث مشكلتان: ادخال الجينات قد يعبر عنه فى أنواع أخرى من الكائنات الدقيقة فى البيئة بالاضافة الى أنه قد تنتج من الجين فى نوع ما من الكائنات الدقيقة مما يزيد من النشاط.

٥- بعض المبيدات الميكروبية المهندسة وراثيا قد تزيد من الفاعلية ضد الآفة المستهدفة أو قد تدخل نوعين من التوكسينات فى كائن واحد. حتى لو كان المدى العوائلى للكائن غير المهندس وراثيا وتأثيره على الحشرات النافعة معروف فانه من المفيد اعادة تقييم تاثيرات الكائن المهندس وراثيا من خلال التقييم الحيوى للمرضية واحداث العدوى فى الحشرات النافعة وغير المستهدفة.

٦- المبيد الميكروبى المهندس وراثيا الذى قد يتميز بدمج صفات متميزة معينة قد يكون قادرا على الثبات فى البيئة فى أوساط جديدة بأعداد كافية تسبب تأثيرات معاكسة على الأنواع غير المستهدفة.

٧- زيادة الثبات البيئى قد تمثل مشكلة تحت بعض الظروف. مثال ذلك أن جين توكسين بكتريا *Bt* يمكن أن يغرس فى مستقبل طويل الدوام أو سهل التضاعف أو فى العائل المناسب مثل الطحلب الأخضر المزرق. هذا قد يكون مطلوبا لزياد فترة الحياه وتشير توكسين *Bt* ليرقات البعوض ولكن قد يؤدى الى مشاكل غير متوقعة خاصة اذا كانت السلالة المهندسة وراثيا ليست محدودة فى التخصصية على الآفة المستهدفة.

٨- مع الاستخدامات العريضة وبعد أن توفى الوسيلة الميكروبية المهندسة وراثيا كل اختبارات الأمان فان الافات المستهدفة قد تكون سلالات مقاومة للتوكسينات الميكروبية للدرجة التى تكون عندها ثابتة لفترات طويلة أو تستمر وجودها فى البيئة لمستويات عالية.

التوصيات: لتطوير طرق لتقييم وتقليل الخطر من ادخال الكائنات المهندسة وراثيا ضد اليرقات فى البيئة يمكن اتباع الاعتبارات التالية:

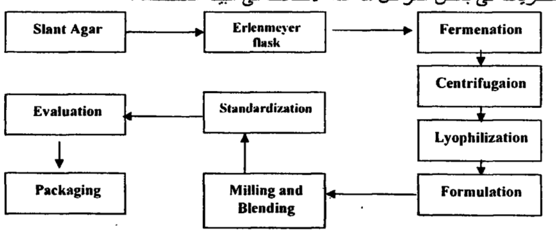
١. بالإضافة الى الدلائل الموجودة عن اختبارات أمان الوسائل الميكروبية فى مكافحة الافات فانه يجب تطوير طرق واقترابات قياسية على خطوات تمكن من اختبار الكفاءة والاماكن للكائنات الدقيقة المهندسة وراثيا من المعمل الى الحقل. الاختبارات التى تتعدى نطاق المعمل يجب أن تتحرك تباعا فى اتجاه: ١- كائنات دقيقة متشابهة، ٢- صوب زجاجية أو غرف نمو، ٣- تقييم حقلى محدود ومقيد.

٢. المنتج المهندس وراثيا يجب أن يعرف بدقة ويختار وينتخب بناء على الصفات المطلوبة بما يسمح بالتقييم المناسب للتأثيرات الأيكولوجية.

٣. اختبارالجودة للسلالات المهندسة وراثيا يجب أن تتطور بشكل جيد. فى الكائنات الدقيقة التى طورت للتطبيقات البيئية ان مقدرة وكفاءة الانجراف الوراثى يجب أن تمنع أو تحجم للدرجة المقبولة تقنيا وفنيا. الوسائل الوراثية المنقولة يجب أن تكون غير متحركة وكما لوحظ قبلا فان ميكانيكيات الحفظ أو التحطيم الذاتى يجب أن تهندس فى المبيدات الميكروبية المندمجة.

سادسا: التقانات المستخدمه فى انتاج المركبات الحيوية البكتيرية

يوضح الشكل رقم (٦- ١) الخطوات المختلفة لانتاج بكتريا *Bacillus thuringiensis kurstaki* أو المركب الحيوى "بروتكتو" حيث يعتمد نظام الانتاج على عملية تخمر باستخدام مواد محلية من البيئة المصرية بحيث تكون رخيصة الثمن وتحتوى على الاحتياجات الغذائية اللازمة لتكاثر ونمو وتجرثم البكتريا من الكربوهيدرات والبروتينات والفيتامينات والاملاح المعدنية. تتشابه خطوات انتاج الفطريات فى بعض المراحل ما عدا الاختلاف فى البيئة المستخدمة.



شكل رقم (٦- ١) الخطوات المختلفة لانتاج مركب البروتكتو الذى يحتوى على
Bacillus thuringiensis kurstaki

المشاكل والمعوقات التى تواجه استخدام المكافحة الحيوية فى مصر

المعوقات الفنية:

١. نقص الخبرة عن الوسائل الحيوية

حتى الآن معظم العاملين فى مجال مكافحة الآفات ليس لديهم المعرفة الكافية عن أنسب الظروف للتعامل مع المنتج الحيوى من حيث توقيت الرش والالة المستخدمة فى التطبيق وكذلك الطور الحساس من الأفه المراد مكافحتها- عدم توفر الخبرة الكافية عن طبيعة العلاقة بين المسبب المرضى والافه مثل كيفية حدوث الفعل السام أو الابادى على الافة والتأثيرات الجانبية على تطور الحشرات وما هى درجة تخصص المسبب المرضى من آفه لأخرى، بالاضافة الى ذلك عدم معرفة العوامل البيئية التى تؤثر فى فعالية المسبب المرضى ومدة بقائه تحت الظروف الحقلية – نقص المعلومات عن تأثير مكونات العائل النباتى المعامل الذى تتغذى عليه المسبب المرضى... عدم توفر تلك المعلومات لدى الباحث أو المهندس الزراعى يمكن أن يلعب دورا كبيرا فى عدم نجاح المسبب المرضى فى مكافحة الآفات تحت الظروف الحقلية.

٢. درجة تخصص السلالات *Lack of Specificity*

من الأخطاء الشائعة الان فى مجال المكافحة البيولوجية استخدام مركب واحد ضد أكثر من آفه حشرية دون ملاحظة أن هناك درجة كبيرة من التخصص فى فعالية تلك المركبات فعلى سبيل المثال فى حالة استخدام بكتريا الباسيلليس *Bacillus thuringiensis* فإن الاختلاف فى تحت النوع *Sub-species* تلعب دورا هاما فى الفعالية من آفة لأخرى وذلك للاختلاف فى تركيب البللورات السامة التى تنتج بالبكتريا حيث أن هناك ثلاثة أقسام رئيسية للبلورات السامة هى *Crystal I (Cry I)* والتى تعتبر فعالة على الحشرات التابعة لرتبة حرشفية الإجنحة *Lepidoptera*، أما النوع الثانى *Cry II* فهو فعال ضد الحشرات التابعة لرتبة حرشفية الأجنحة ، وثنائية الأجنحة، والنوع الثالث *Cry III* فهو فعال ضد الحشرات غمدية الأجنحة *Cloeoptera* والنوع الرابع *Cry IV* فهو فعال ضد الحشرات التابعة لرتبة ثنائية الأجنحة *Diptera* – هذا بالاضافة الى أن مكونات كل نوع من البللورات بما تحتوى على بروتين سام ودرجة توافق تلك البروتينات مع الفتحات الموجودة على الشعيرات المبطنة للمعى الأوسط وكذلك درجة حموضة المعدة ودرجة نشاط انزيمات تحلل البروتين تلعب دورا فى فعالية سلالة ما من البكتريا على الحشرات المختلفة، ولذلك من الخطأ أن تستخدم سلالة فعالة ضد حشرات حرشفية الأجنحة ضد آفات المخازن من السوس التابع لرتبة غمدية

الأجنحة أو الأكاروس كما يحدث فى بعض الدراسات التى تمت بواسطة غير المختصين حيث يكون التأثير فى هذه الحالة راجع للاضافات الأخرى فى المركب وليس للبكتريا. بالنسبة للفطريات لابد من دراسات موسعة لمعرفة درجة التخصص على الحشرات المختلفة وان كانت ميكانيكية التأثير واحدة من خلال جدار الجسم حيث يتم الاختراق ثم الانتشار والتغذية والتكاثر على محتويات الحشرة الداخلية.

٣. نوع المستحضر *Type of Formulation*

نوع المستحضر يلعب دورا أساسيا فى درجة بقائه فعالا تحت ظروف التخزين فالمركبات البكتيرية التى تكون فى صورة مساحيق قابلة للبلل تكون فترة بقائها تحت ظروف التخزين أطول من تلك التى تكون فى صورة سائلة سواء فى صورة مائية أو زيتية حيث أن توفر الرطوبة يعمل على نشاط المسبب المرضى باستمرار وفى بعض الأحيان تكون الصورة التى يوجد عليها المسبب المرضى غير ممرضة للآفه كما حدث فى مصر بالنسبة لأحد المستحضرات الفطرية والتى تحتوى على فطر *Beauvaria Bassiana* حيث حقق هذا المركب خلال موسم ١٩٩٧ نتائج جيدة فى مكافحة الذبابة البيضاء على محصول القطن حيث كان المنتجه حديثا مما دعا الشركة المنتج الى تجهيز كميات كبيرة لموسم ١٩٩٨ وخزنت لفترات تزيد على ٦ أشهر ولكنها عند التطبيق لم تعطى أى كفاءة على الذبابة البيضاء مما أفقد ثقة الزراع فى المنتج، كما أنه يكون من الصعب تجهيز بعض المبيدات الحيوية فى صورة مستحضرات تجارية كما هو الحال فى حالة النيماتودا بالرغم من فعاليتها تحت الظروف المعملية، بالنسبة للأعداء الحيوية من الطفيليات والمفترسات بالرغم من العديد من النجاحات التى تحققت فى مصر باستخدام الطفيليات والمفترسات الا أن عملية انتاجها وتسويقها لا زالت تواجهها بعض المشكلات مثل انتاجها بكميات كبيرة وخاصة انها تحتاج الى تجهيزات مكلفة من مبانى وبيئات لتربية عوائلها المفضلة وجهد لاقناع المزارعين وأوقات معينة للاطلاق بما يتناسب مع عوائلها من الحشرات حتى يمكنها من البقاء تحت الظروف الحقلية.

٤. قصر فترة بقاء المركب *Low Persistence*

من الخواص المميزة للكائنات الميكروبية من البكتريا والفطريات والفيروسات ان مدة بقائها فى الحقل قصيرة بالمقارنة بالمبيدات وهذا يقلل من اقبال المزارعين عليها مما يتطلب برفع الوعى لدى الزراع عن أن تأثير هذه المركبات تراكمى فبالرغم من أن نسبة كبيرة منها تفقد خلال فترة وجيزة بعد الرش الا أن المتبقى من تلك الافراد له القدرة على التكاثر فى الوسط المعامل أو نتيجة اعادة انتشارها من الأفراد الحشرية

التى أصيبت بها وهذه الظاهرة تسمى بظاهرة الـ *Epizitotic* مما يساعد فى احداث عدوى مرة أخرى للحشرات. كما أن مكونات المبيد الحيوى المضافة للمستحضر تلعب دورا فى طول مدة بقائه وبخاصة المواد الواقية من الأشعة الفوق بنفسجية والتى تلعب دورا هاما فى موت تلك الكائنات.

٥. المدى العوائلى *Host range*

المدى العوائلى لمعظم المركبات الحيوية يعتبر محدود بالمقارنة بالمبيدات مما يجعل عملية المكافحة معقدة فى بعض الأحيان وخاصة عند وجود أكثر من آفه للمحصول ويتطلب التدخل بالمبيدات لمكافحة تلك الآفات بخلاف المبيدات حيث اعتاد الزراع على استخدام مبيد واحد لمكافحة أكثر من آفة فى نفس الوقت.

٦. تكاليف الانتاج فى الدول النامية

يحتاج انتاج المركبات الحيوية سواء التى تحتوى على كائنات ميكروبية أو تلك التى تعتمد على المركبات الحيوية الكيميائية الناتجة من تخمر الميكروبات الى تكنولوجيا عالية للفصل والتعريف للنواتج المختلفة والتجهيز وبالتالى فهى تعتبر مكلفة فى الكثير من الدول النامية.

٧. عدم وجود بروتوكولات مراقبة الجودة

عدم توفر البروتوكولات الخاصة بتقييم المركبات الحيوية مثل دراسة خواص البروتينات السامة فى البكتريا أو نواتج تمثيل الفطريات أو تقدير جزيئات الفيروس وكذلك طرق أخذ العينات وكيفية حفظ المنتج النهائى وأنسب الطرق فى تقييم تلك المركبات معمليا وحقليا يجعل من الصعب تقارب النتائج المتحصل عليها فى الأماكن المختلفة من محطات التقييم فى المعامل والحقول.

المعوقات الاقتصادية

تتمثل المعوقات الاقتصادية فى عدم اقبال شركات انتاج المبيدات الكيماوية ورجال الأعمال على الاهتمام بانتاج تلك المركبات لعدة أسباب أهمها تعود شركات انتاج المبيدات على تسويق الاف الأطنان من المبيدات سواء للسوق المحلى أو التصدير مما يحقق أرباح طائلة من تلك العملية فى فترات قصيرة ، ولكن نظرا لأن المركبات الحيوية لا زالت تحتاج الى مجهود كبير والنجاحات التى تحققت تعتبر ضئيلة بالنسبة للمبيدات ان معظم الشركات تعتبر الدخول فى انتاج تلك المركبات عملية خاسرة.

المعوقات الطبيعية:

الظروف البيئية تعتبر عوامل مؤثرة فى نجاح استخدام تلك المركبات وخاصة التى تحتوى على كائنات حية من البكتريا والفطريات والفيروسات مما يستلزم دائما

البحث عن سلالات من البيئة المحلية تتحمل الظروف البيئية السائدة والتغلب على احتمالات ظهور صفة المقارنة لتلك المركبات مع تطوير صورة المنتج باستمرار حتى يمكن مقارنة الظروف البيئية العاكسة.

المعوقات المؤسسية:

عدم توفر الدعم المادى الكافى للتطوير المستمر فى مجال بحوث التكنولوجيا الحيوية وخاصة أن الدراسات فى هذا المجال تعتبر مكلفة.

المقترح التطويرى لاستخدام المكافحة الحيوية فى الحد من تلوث البيئة فى مصر:

الخلفية : نظرا لأن المبيدات الميكروبية أصبحت حجر الزاوية فى برنامج المكافحة المتكاملة للأفات لما لعناصر المكافحة البيولوجية المختلفة من تخصص تجاه عوائلها الحشرية وعدم اضرارها بالحشرات النافعة قد دفع بجذب الاهتمام اليها ، حيث أن أنماط مختلفة منها استعملت لعديد من السنوات دونما ثمة تأثير بيئى غير مرغوب فيه ، وذلك بالرغم من تلك الحقيقة والكم الهائل من البحوث المتعلقة بهذا المجال لم تأخذ المبيدات الميكروبية طريقها المنشود الى السوق التجارى والذى يتناسب مع أهميتها وذلك بسبب قصر مدة بقائها تحت الظروف الحقلية وبطئ تأثيرها على الآفات مما يجعل الكثير من الزراع أكثر تخوفا من استخدامها مما يحتاج الى بذل المزيد من الجهود. للحصول علي أفضل النتائج من استخدام المكافحة البيولوجية فمن الضرورى توفر برامج متنوعة متكاملة *integrated Diverse Programmes (IDP)* تعتمد على الأعداء الطبيعية والكائنات الميكروبية (بكتريا- فطريات- فيروسات) بجانب الجاذبات الجنسية ، ولتحقيق ذلك يلزم اتخاذ بعض الاجراءات التالية:

الاستراتيجية

يجب الأخذ فى الاعتبار أن استخدام الكائنات الميكروبية فى مجال مكافحة الآفات تعتبر أحد أنواع التكنولوجيا الموجهه والتى تعتمد على ضرورة توفر الانتاج فى أوقات محددة وبأفضل صورة حتى يفى بالغرض المستخدم من أجله وهذا يتطلب ما يلى:

١. الاهتمام بعلوم التكنولوجيا الحيوية *biotechnology* خاصة فى مجالات البروتين والتعديل الوراثى *genetic modification* حيث أن ذلك سوف يساعد فى معرفة الأنواع المختلفة من البروتينات السامة لكل سلالة بكتيرية وبالتالى درجة فعاليتها على الأفات المختلفة مع الأخذ فى الاعتبار درجة حساسية الاطوار المختلفة للآفات وكذلك تأثير العائل النباتى الذى تتغذى عليه الحشرة على فعالية البكتريا، كما أن

التعديل الوراثى سوف يساعد فى زيادة فعالية السلالات البكتيرية من خلال ادخال أكثر من جين وبالتالى تستطيع السلالة الواحدة أن تنتج أكثر من توكسين ذو فعالية على أكثر من آفة. وفى حالة الفيروسات يمكن تحسين مدة بقاء الفيروس تحت الظروف الحقلية مع زيادة فعاليتها من خلال ادخال بعض الجينات الوراثية من الكائنات الأخرى مثل الجينات المسئولة عن افراز المواد السامة فى العقرب أو النحل أو بعض أنواع الدبابير.

٢. تطوير البحوث العلمية فى مجال الميكروبيولوجى من حيث البحث المستمر عن الكائنات الميكروبية (بكتريا- فطريات- الفيروسات) الممرضة للآفات على مستوى القطر الواحد وبالتالى عمل خريطة جغرافية لتلك المسببات حتى يمكن توفر المعلومات الأولية عن إمكانية نجاحها فى كل منطقة طبقا للظروف المناخية السائدة والتى تختلف فيها الآفات الحشرية بناء على اختلاف العوائل المنتشرة بها. كما أن هذا الحصر الجغرافى للمسببات المرضية يمكن أن يساعد على معرفة الكائنات المنتشرة على مستوى الوطن العربى لمعرفة مدى امكانية تبادلها واستخدامها فى أكثر من دولة بالوطن العربى لمكافحة الافات المتشابهة فى تلك الدول.

٣. زيادة الميزانيات الخاصة بتطوير البحوث العلمية التطبيقية فى مجال المكافحة الحيوية للآفات وتبنى المنظمة العربية للتنمية الزراعية فكرة انشاء رابطة العاملين فى مجال المكافحة البيولوجية مما يمكنهم من التبادل المستمر للمعلومات والبحوث حتى يمكن توحيد طرق تسجيل وتداول ومراقبة الجودة للمركبات الحيوية حتى يمكن تجنب ما يستجد من مشكلات قد تنجم عنها على المدى البعيد مثل ظهور صفة مقاومة الآفات لتلك المركبات.

٤. ضرورة تعاون الباحثين فى التخصصات المختلفة مثل مكافحة الآفات والحشرات والأمراض والميكروبيولوجيا الزراعية والتكنولوجيا الحيوية لأن ذلك سوف يساعد فى معرفة درجة تخصص المسببات المرضية وميكانيكية احداث الفعل السام لها على الحشرات وكذلك درجة تحملها للظروف البيئية المختلفة وبالتالى العمل على تحسين صورة المنتج التجارى بما يحقق أفضل النتائج على المستوى التطبيقى.

٥. تنشيط دور القطاع الخاص والاستثمار فى عملية انتاج المركبات الحيوية بصورها المختلفة مثل انتاج بكتريا الباسيلليس بما يخدم الدول العربية فى ظل سياسة التجارة الحرة وانشاء السوق العربية المشتركة.

الاهتمام بالتدريب المستمر للمهندسين لزيادة مفهوم المكافحة الحيوية وكيفية العمل على انجاحها وظروف التطبيق الأمثل وربط ذلك بكلا من سلوك وبيولوجيةالآفة.

سابعا: دراسات عن التأثيرات الحيوية والهيماتولوجية والجزيئية لبعض المبيدات الحيوية على حيوانات التجارب

١. دراسة حيوية كيماوية حيوية وهيماتولوجية على تأثير السم الناتج من سلالة *Bacillus species* على حيوانات التجارب

للطالبة/هاجر اسماعيل طلبة للحصول على درجة الماجيستير فى العلوم (كيمياء حيوية زراعية) من كلية الزراعة جامعة القاهرة تحت اشراف أ. د. أحمد أبو العينين ، أ. د. مصطفى الهراوى ، أ. د. مصطفى فراج. استهدفت هذه الدراسة إلقاء الضوء على التأثيرات السامة لإثنين من المبيدات الحيوية وهما *B.thuringiensis var. egyptica and B.thuringiensis var. Kursta* على ذكور الفئران البيضاء الكبيرة حيث أختبرت ثلاث تركيزات هما:

وحدة تكوين 1.2×10^6 , 2.4×10^6 and 4.8×10^6 جرثومة/ حيوان تم تناول المبيد عن طريق الفم أخذت عينات الدم فى مادة *E DTA* (إيثيلين داى إمين تترا آسيتيك أسيد) المانعة للتجلط وذلك للتعرف على صورة الدم فى اسبوع ٤،٣،٢،١ من بداية المعاملة. كما تم الحصول على بلازما الدم بالطرد المركزى لعينات الدم المضاف اليها مادة الهيبارين المانعة للتجلط. ويمكن تلخيص النتائج المتحصل عليها فيما يلى:

(١) العلاقة بين المبيدات وصورة الدم:

أظهرت النتائج أن عدد كريات الدم الحمراء وتركيز الهيموجلوبين نقص بدرجة معنوية فى جميع الفئران المختبرة بينما لم يحدث تغير فى كل من متوسط حجم كرية الدم الحمراء ومتوسط الهيموجلوبين ولكرية الدم الحمراء ومتوسط تركيز الهيموجلوبين لكرية الدم الحمراء وأوضحت النتائج حدوث أنيميا للفئران المعاملة بالتركيز العالى والمتوسط من *B.thuringiensis var. egyptica* فى الاسبوع الأول والثانى ثم حدث استشفاء للفئران فى الأسبوع الثالث والرابع. بينما سبب التركيز المنخفض من نفس المبيد الأنيميا فى الاسبوع الثالث فقط. ومن ناحية أخرى. سبب التركيز العالى والمتوسط من مبيد *B.thuringiensis var. Kursaki* أنيميا فى الاسبوع

الثانى من بدء المعاملة وفى حين أن التركيز المنخفض سبب أنيميا فى الاسبوع الأول والثانى من بدء المعاملة.

وبالنسة لعدد كريات الدم البيضاء الليمفاوية حدث زيادة معنوية فى جميع الفئران المختبرة. بينما لم يحدث أى تغير معنوى فى عدد الخلايا المتعادلة والحمضية. وأيضا لم تؤدى المعاملة بالمبيدات المختبرة الى تغير فى عدد خلايا الدم الحمراء الشبكية. ولكن أدت الى تكوين أجسام هينز فى كريات الدم الحمراء للحيوانات المعاملة أثناء التجربة كما حدث تغير فى الهشاشة الاسموزية لكريات الدم الحمراء فى جميع الحيوانات المعاملة أثناء التجربة.

(٢) المبيدات والمعايير البيوكيميائية للحيوانات المختبرة:

أوضحت النتائج المتحصل عليها حدوث انخفاض معنوى فى نشاط انزيم الكرياتينين فوسفوكينيز وإنزيم الانيتينين أمينوترانسفيريز فى جميع الحيوانات المختبرة. كما حدث انخفاض معنوى فى تركيز البروتين والألبيومين فى الدم وكذلك أيونات الصوديوم والبوتاسيوم.

(٣) الفصل الكهربى للبروتين:

أظهرت نتائج الفصل الكهربى للبروتين تغييرات بسيطة فى أماكن فصل البروتين نتيجة المعاملة بالمبيدات الحيوية.

(٤) الفحص الباثولوجى:

أولا: فى الكبد

عند فحص الخلايا الكبدية للفئران المعاملة بالتركيز العالى من *B.thuringiensis var. egyptica* لمدة ٤ أسابيع لوحظ ظهور احتقان فى الوريد المركزى مع وجود فراغات فى سيتوبلازم بعض الخلايا الكبدية مقارنة بالمجموعة الضابطة كما وجد نشاط ملحوظ للخلايا الأكولة ذات القدرة الالتهامية (خلايا كوفر) فى حين أن التركيز المتوسط *B.thuringiensis var. egyptica* سبب ظهور مناطق بها فراغات فى سيتوبلازمية بالتبادل مع مناطق أخرى طبيعية فى نسيج الكبد. أما فى حالة المعاملة بالتركيز العالى من مبيد *B.huringiensis var. Kurstaki* لمدة ٤ أسابيع لوحظ ظهور تضخم فى خلايا الكبد مع اختفاء الجيوب الكبدية. وكان من الشائع فى هذه المعاملة ظهور انكماشات فى أنوية خلايا الكبد فى حين أن التركيز المتوسط من نفس المبيد أدى الى ظهور انتفاخ فى الخلايا الكبدية مقارنة بالمجموعة الضابطة مع نشاط ملحوظ للخلايا الأكولة ذات القدرة الالتهامية (خلايا كور).

ثانيا: الطحال

عند فحص خلايا الطحال للفئران المعاملة بالتركيز العالى من *B.huringiensis* *var. egyptica* لمدة ٤ أسابيع لوحظ اضمحلال فى الخلايا المكونة لكرات الدم مع زيادة سمك الطبقة المبطنة للطحال مقارنة بالمجموعة الضابطة كما ظهرت نفس النتائج فى الفئران المعاملة بالتركيز المتوسط بالمقارنة بالمجموعة الضابطة. أما فى حالة المعاملة بالتركيز العالى من مبيد *B.thuringiensis var. Kurstaki* لمدة ٤ أسابيع لوحظ ظهور زيادة فى سمك الشريان المغذى لخلايا الطحال فى حين أن التركيز المتوسط من نفس المبيد أدى الى زيادة فى ترسيب مادة الهيموسيدرين.

ثالثا: المخ

أظهر الفحص الباثولوجى عدم حدوث تغييرات جوهرية فى خلايا المخ فى جميع الحيوانات المختبرة بالمقارنة بالمجموعة الضابطة.

٢. "دراسات جزيئية على تأثير بعض المبيدات البيولوجية الطبيعية فى حيوانات التجارب"

للطالبة فاطمة محمد همام محمد من قسم الكيمياء الحيوية بكلية العلوم جامعة عين شمس تحت اشراف أ. د. عبد الحليم عبد الهادى مصطفى ، أ. د. محمد سيد سلامة ، د. نادية يوسف صادق مرقس ، د. الحسينى نجيب الخطيب عام ١٩٩٩.

من دراسات تلوث البيئة ثبت أن معظم المبيدات الكيميائية المستخدمة فى حماية المزروعات تضر بالبيئة بطريقة أو أخرى بما فيها الانسان. ويأتى هذا الأثر السلبى نتيجة انتشار وانتقال هذه المبيدات الى البيئة المحيطة وبعيدا عنها أيضا. وللحد من هذه الآثار السلبية لجأ العلماء الى استخراج واستخدام مبيدات من بعض الكائنات الحية وسميت بالمبيدات البيولوجية الطبيعية.

هدف هذه الدراسة هو تقييم السمية الوراثية لإثنين من المبيدات الحيوية حديثة الاستخدام فى مجال مكافحة الآفات الزراعية فى مصر وهما:

(١) أفيرميكتين (معتمد على فطر *Streptomyces avermiilis*)

(٢) دايبل ٢x (معتمد على البكتريا *Bacillus thuringiensis ssp. Kurstaki*

اشتملت الدراسة على ثلاثة أجزاء أساسية وهى:

١. قياس السمية الحادة لهذه المستحضرات (بتقدير الجرعة القاتلة النصفية للفئران البيضاء).

٢. دراسة قدرة هذه المستحضرات فى إحداث طفرات فى كروموسومات ونوييات خلايا نخاع العظام فى حيوانات التجارب المستخدمة بعد تناولها جرعات مختلفة من المبيدين المختبرين فى فترات تتراوح ما بين ١– ٢٨ يوم.

٣. تتبع الآثار السمية على الحامض النووى دى أوكسى ريبوز *(DNA)* فى كبد فئران التجارب وذلك باستخدام الطرق الحديثة: تفاعل البلمرة المتسلسل *(RAPD- PCR)*. وأنزيمات القطع فى اختبار تباين أطوال القطع العشوائى.

توصلت الدراسة الى النتائج الآتية:

أولا: قياس السمية الحادة لذكور الفئران البيضاء:

١. تقدير الجرعة النصفية عن طريق الفم لمركب أفيرميكتين: أوضحت النتائج المتحصل عليها أن الجرعة القاتلة النصفية عن طريق الفم لذكور الفئران البيضاء هى ٣٢,٥ مليجرام/ كيلوجرام من وزن الجسم (الكمية محسوبة على أساس نسبة المادة الفعالة فى المستحضر).

٢. تقدير الجرعة القاتلة النصفية عن طريق الفم لمستحضر (دايبل ٢x): أثبتت النتائج المتحصل عليها أن الجرعة القاتلة النصية عن طريق الفم لذكور الفئران البيضاء هى أكثر من ٥٠٠٠ مليجرام/ كيلو جرام من وزن الجسم.

ثانيا: تقييم القدرة الطفرية للمركبات المختبرة:

استخدمت عدة مستويات للجرعة من مركب أفيرميكتين (١/٥ ، ١/١٠ ، ١/٢٠) من الجرعة القاتلة النصفية ومن مركب دايبل ٢x (٥٠٠٠ ، ٢٥٠٠ ، ١٠٠٠) مليجرام/ كيلو جرام كذلك تم التعريض عن طريق الفم وأخذ العينات بعد (١و٧و١٤و٢٨ يوم). وأوضحت النتائج ما يلى:–

١. تسببت المعاملة بمركب أفيرميكتين فى إحداث تأثيرات طفرية معنوية مقارنة بالمجموعة الضابطة حيث كانت هناك زيادة معنوية فى تكرار تكوين النوييات الصغيرة وكذلك زيادة نسبة التحورات الكروموسومية فى نخاع عظام الفئران البيضاء ى جميع المعاملات بصة عامة. وتدرج الأثر السمى من (١/٥ الى ١/١٠ الى ١/٢٠) فى حين أنه وجد علاقة عكسية بين درجة السمية ومدة التجربة. وكانت معظم التحورات الكروموسومية تحورات تركيبية بينما كانت التحورات الكروموسومية العددية محدودة للغاية.

٢. تسببت المعاملة بمركب (دايبل ٢x) فى إحداث تأثيرات طفرية معنوية من خلال زيادة تكرار الخلايا المحتوية على نويات صغيرة وأيضا المحتوية على تحورات كروموسومية تركيبية. وتدرج الأثر السمى من ٥٠٠٠ الى ٢٥٠٠ الى ١٠٠٠ فى حين أنه وجدت علاقة عكسية بين درجة السمية ومدة التجربة. بينما لم تسجل أية تغيرات كروموسومية عددية.

ثالثا: الدراسات الوراثية الجزيئية:

لقد استخدمت خلايا كبد الفئران المعالجة بالمبيدات المختبرة "أفيرميكتين دايبل ٢x. فى الدراسات الجزيئية حيث تم استخلاص الـــ*(DNA)* منها وإجراء التجارب الاتية:

أ. البصمة الوراثية لجزئ *DNA* الناتجة عن تباين التضاعف العشوائى لـــ *DNA* الخلايا باستخدام البادئات العشوائية مع تفاعل البلمرة المتسلسل :*(RAPD- PCR)*

أستخدمت طريقة التضخيم العشوائى لقطع *DNA* المتباين عن طريق جهاز تفاعل البلمرة المتسلسل *RAPD- PCR* باستخدام سلسلة بادئات عشوائية لتقييم الطفرات الجينية الناجمة عن التعرض لهذه المبيدات محل الدراسة وكانت النتائج كالتالى:

١. كل البادئات سجلت اختلافات واضحة بين عينات *DNA* الخلايا للمجموعة الضابطة السلبية والعينات المعاملة لكل من المبيدين مما يشير الى وجود تأثيرات على *DNA* الخلايا.

٢. سجل البادئ العشوائى *OPA-1* أكثر من البادئات العشوائية الأخرى المستخدمة فى الحيوانات المعاملة بمبيد أفيرميكتين درجة عالية من الاختلافات مقارنة بالمجموعة الضابطة السلبية.

٣. البادئ العشوائى *OPA-4* فى المجموعة المعاملة بمبيد دايبل ٢x كان له كفاءة عالية لتحديد الاختلافات فى *DNA* خلايا الحيوانات المعاملة أكثر من البادئات الأخرى المستخدمة.

ب. تحليل تباين أطوال القطع العشوائى للـــــ *DNA* باستخدام أنزيمات القطع:

لقد تم قطع جزئ *DNA* لعينات خلايا كبد الفئران المعالجة بالمبيدات المختبرة (أفيرميكيتين ودايبل ٢x) وكذلك عينات *DNA* فى المجموعات الضابطة السلبية والتى لم تعامل بأى مادة باستخدام ٥ أنزيمات قاطعة وكانت نتائج القطع كالتالى:

١. DNA الخلايا فى عينات كبد الفئران فى المجموعة الضابطة السلبية قطعت بواسطة كا الأنزيمات المستخدمة المستخدمة الى منطقة واسعة تتكون من أحجام جزيئية مختلفة شغلت مساحة من الجيل تمتد من (٢٣- ٠,٥) كيلو قاعدة وذلك مقارنة بـــ DNA الخلية القياسى.

٢. DNA الخلايا من الفئران المعاملة بالمبيدين المختبرين أظهرت اختلافا واضحا عن نمط التقطيع فى المجموعة الضابطة. أنزيمات القطع (Xba I, EcoRI) قطعت DNA الخلايا المعاملة بمبيد أفيرميكتين الى ٩ و ٥ قطع من الـــ DNA مختلة الحجم لها وزن جزيئى يتراوح من (٢,٥- ٠,٤) كيلو قاعدة و (٩,٢- ٠,١٦٢) كيلو قاعدة. بينما أنزيمات القطع المتبقية Bam HI, Hind III,Xho I قطعت DNA الخلايا المعاملة الى متوسط ٧ قطع يتراوح أحجامها الجزيئية من (١,٥- ٠,١٤) كيلو قاعدة.

٣. DNA الخلايا فى المجموعة المعاملة بمبيد دايبل x٢ قطعت بواسطة أنزيمات القطع الخمسة المستخدمة الى متوسط ٩ قطع من الـــ DNA لها وزن جزيئى يتراوح من (٢- ٠,٦) كيلو قاعدة.

مما سبق نستنتج أن:

١. الدراسة الجزيئية تشير الى امكانية استعمال البادئ العشوائى OPA-1 لمبيد أفيرميكتين والبادئ العشوائى OPA-4 لمبيد الدايبل x٢ كمحددات جزيئية لمعرفة التغير فى DNA الخلايا نتيجة التعرض لهذه المبيدات.

٢. RAPD-PCR و RELP تعتبر وسيلة جديدة لدراسة التغير فى DNA الخلية.

٣. يمكن استخدام الطرق السيتوجينية والجزيئية المستخدمة فى هذه الدراسة للتوصل الى نفس النتائج فى تحديد مدى التأثير على DNA الخلايا.

٤. المبيدين الحيويين أفيرمكتين ودايبل x٢ أحدثا طفرات مختلفة فى كروموسومات ونوييات و DNA خلايا حيوانات التجارب المستعملة.

٥. نتائج هذا العمل تشير الى ضرورة تتبع الآثار السمية للمبيدات الحيوية باستخدام التقنيات الحديثة.

جدول (٦-٤): الأسماء التجارية وتحت الأنواع فى بكتريا .B.t والآفات المستهدفة والأصل

Subspecies	Taget pest	Company country of origin
Kurstaki Astur (asporogenic)	Lepodoptera	Bushkovskaya et al 1994
Bacilan	Lepodoptera	Lonc et al 1986
Bactec bertan	Lepodoptera	Bactec corporation
Bactospeine 1	Lepodoptera	Abbott: Starnes et al 1993
Bactucide	Lepodoptera	Switzerland:Triggiani&
Baktur	Lepodoptera	sidor 1982
Bathurim	Lepodoptera	Scalco et al 1997
Bioasp (asporogenic)	Lepodoptera	Slovakia:Novotny&Svestka 1986
Biobit	Lepodoptera	India:satapathy&panada 1997
Biodart	Lepodoptera	Abbott: Starnes et al 1993
Biolep (sporogenous)	Various	ICI Canada:Bemier et al 1990
Biotrol2	Lepodoptera	India:satapathy&panada 1997
B.t. Turex	Lepodoptera	Bishop et al 1973
Condor	Lepodoptera	Spain;Cortes&Borrero 1998
CoStar	Lepodoptera	Ecogen:Starnes et al 1993
Crymax	Lepodoptera	Thermo trilogy:Shah&Goettel 1999
Cutlass	Lepodoptera	Ecogen:Shah&goettel 1999
Delfin	Lepodoptera	Ecogen:Starnes et al 1993
Dipel3	Lepodoptera	Thermo: Trilogy
Foray	Lepodoptera	Abbot:Shah&goettel 1999
Futura	Lepodoptera	Abbot:Shah&goettel 1999
Javelin	Lepodoptera	Abbot:Starnes et al 1993
lepidocide	Lepodoptera	Thermo trilogy:Shah&Goettel 1999
Lepinox	Lepodoptera	Goral et al 1984
Manaple	Lepodoptera	Ecogen:Shah&goettel 1999
Mattch	Lepodoptera	Brazil. Cnv 1977
MVP4 (Cry 1 Ac)	Lepodoptera	Myeogen
MYX4 (Cry 1 Ab)	Lepodoptera	Myeogen Nyouki et al 1996
Novabac	Lepodoptera	Myeogen Nyouki et al 1996
Novosol	Lepodoptera	Randall et al 1979 Abbott

دراسات كيميائية حيوية وفسيولوجية على تأثير بعض المبيدات فى حيوانات التجارب

للطالبة هدى السيد أحمد فريد للحصول على درجة الماجيستير فى الكيمياء الحيوية الزراعية من كلية الزراعة جامعة المنوفية تحت اشراف أ.د. عبد الوهاب اسماعيل عيسى، أ.د. محمد عبد السلام حبيب، د. سامية محمود خليل.

إن إنتشار استخدام المبيدات فى مكافحة الآفات الزراعية منذ أربيعينيات القرن الماضى أدى الي حدوث حالات تسمم فى الانسان والحيوانات نتيجة تلوث الغذاء وماء

الشرب الناتج من تراكم الآثار المتبقية من تلك المبيدات ونظرا لهذا الانتشار الواسع فى إستخدام المبيدات فى العقود الماضية ولما تسببه من تلوث البيئة والغذاء والماء والأضرار الصحية الجسيمة على الإنسان والحيوان – فقد اتجهت الجهود البحثية الى استنباط مبيدات من أصل حيوى بدلا من المبيدات الكيميائية كذلك الى استخدام برامج المكافحة المتكاملة لهذه الافات نظرا لأن أغلب المبيدات المستخدمة ليس لها تخصص واضح، لذا فانها تسبب الكثير من حالات التسمم للكائنات الأخرى الغير مستهدفة والتى منها الانسان وبعض صور الحياة البرية الأخرى. ونتيجة التعرض اللحظى أو المزمن لهذه المبيدات سواء بطريقة مباشرة أو غير مباشرة فإنها تسبب تاثير بالغ الأهمية فى ذكور تلك الكائنات الحية غير المستهدفة.

مما هو جدير بالذكر، أنه ثبت مؤخرا أن الخطورة ليست فقط فى التعرض للتركيزات العالية للمبيدات والتى يكون تأثيرها واضحا ويمكن إتخاذ الاجراءات اللازمة لها، ولكن المشكلة أكثر تعقيدا حيث أن المركبات التى قد تحدث بعض التأثيرات الضارة بالتركيزات العالية تظهر أضرارا بالغة الخطورة نتيجة لتراكم التركيزات المنخفضة منها والتى يتعرض لها الانسان والحيوان فى المنتجات الزراعية ومياه الشرب.

نظرا لعدم توفر معلومات كافية عن احتمالات التأثيرات الضارة لتلك المبيدات وبخاصة المبيدات الحيوية والتى منها مبيد الأبامكتين (الفيرتمك٩ الذى لم تتوفر عنه معلومات كافية من حيث اضراره المحتملة على البيئة وصحة الانسان، فقد أجريت هذه الدراسة فلقاء الضوء على تأثير مركب الأبامكتين على التغيرات الكيميائية والفسيولوجية والهستوباثولوجية فى حيوانات التجارب (الفئران البيضاء).

قد قسمت الدراسة الحالية الى قسمين رئيسين هما كالآتى:

١- دراسة السمية الفمية الحادة (الجرعة النصفية المميتة) على الفئران البيضاء:

أوضحت النتائج أن الجرعة النصفية المميتة *(LD_{50})* لمبيد الأبامكتين على ذكور الفئران البيضاء كان ٤٠ ملجرام/ كجم من وزن الجسم.

٢- دراسة السمية تحت المزمنة *Subchronic toxicity* على ذكور الفئران البيضاء:

فى هذا الجزء من البحث تم دراسة تأثير المركب المختبر على وظائف الكبد والكل والغدة الدرقية ومعدل استهلاك الغذاء ومعدل الزيادة فى وزن الجسم ووزن بعض الأعضاء الداخلية وكذلك الخصوبة فى الذكور. قد عوملت ذكور الفئران البيضاء بمركب الأبامكتين فى مياه الشرب لمدة ٩٠ يوم بثلاثة تركيزات ١,٥، ٣، ٦ جزء فى المليون، ثم رفع المركب وتركت الحيوانات للإستشفاء (فترة الاسترجاع) لمدة ٣٠ يوم.

يمكن تلخيص النتائج المتحصل عليها فيما يلى:

أولا: الدراسات الكيميائية الحيوية:

١- تأثير المبيد على وظائف الكبد:

تم دراسة القياسات الكيميائية الحيوية التى تستخدم كمؤشرات على التغيرات فى وظائف الكبد – ويمكن تلخيص نتائجها كما يلى:

١- حدوث نقص معنوى فى نشاط انزيم الأنين أمينو ترانسفيريز *(ALT)* ونشاط انزيم اسبارتيت أمينو ترانسفيريز *(AST)* بدرجات مختلفة.

٢- زيادة معنوية فى تركيز الجلوكوز وبدرجات متباينة.

٣- تذبذب فى مستوى البروتين الكلى.

٤- عدم حدوث أى تغيرات معنوية فى مستوى الألبيومين.

٥- أدى توقف المعاملة وسحب المبيد فى مياه الشرب الى اعادة (استرجاع) القيم الى معدلها الطبيعى بعد فترة الاستشفاء (٣٠ يوم) فيما عدا استمرار ارتفاع قيم كلا من الجلوكوز البروتين الكلى.

تأثير المبيد على وظائف الكلى:

استخدمت دراسة القياسات الكيميائية التالية كمؤشرات لوظائف الكلى وأوضحت النتائج ما يلى:

١- عدم حدوث أى تغيرات معنوية فى مستوى اليوريا.

٢- حدوث زيادة معنوية فى مستوى الكرياتينين.

٣- إستمرار ارتفاع مستوى الكرياتينين أثناء فترة الاستشفاء.

٢- وظائف الغدة الدرقية:

استخدمت المعايير الكيميائية التالية للدلالة على تأثير المبيد على وظائف الغدة الدرقية.

١- زيادة تركيز هرمون الثيروكسين (T_4) معنويا.

٢- نقص هرمون التراى ايودوثيرونين (T_3) معنويا.

ثانيا: الدراسات الفسيولوجية:

١-أدى استخدام المبيد الى حدوث نقص فى كلا من معدل استهلاك الغذاء ومعدل زيادة وزن الفئران المعاملة كما أن اوزان الأعضاء الداخلية لم تتاثر.

٢-تأثير المبيد على الخصوبة.

أ. عدم تأثر وزن كلا من البروستاتا والحويصلات المنوية بينما حدث انخفاض فى وزن الخصى. ثم زال التاثير على وزن الخصى بعد توقف المعاملة.

ب. أدت المعاملة اليومية لذكور الفئران البيضاء لمدة ٩٠ يوم بمركب الأبامكتين الى نقص واضح فى كفاءتها على الخصوبة وذلك بعد أن قلت نسبة الحمل فى الاناث الغير معاملة بعد تزاوجها بالذكور التى عوملت بالمركب. وايضا نقص عدد الحيوانات المنوية وكذلك نقص حيويتها وحركتها. وكذلك حدوث زيادة فى هرمون التستوستيرون.

ج. بعد توقف المعاملة زالت التأثيرات السابقة على كلا من خصوبة الذكور وعدد وحيوية الحيوانات المنوية.

ثالثا: الدراسات الهستوباثولوجية:

أظهرت الفحوصات الهستوباثولوجية لكبد وكلى والغدة الدرقية وخصى الفئران المعاملة التغيرات التالية:

١- بالنسبة للكبد:

أ- حدوث احتقان للأوردة الرئيسية مع وجود ارتشاحات لخلايا الدم الحمراء.

ب- حدوث تنكس دهنى فى سيتوبلازم الخلايا.

ج- موت موضعى فى الخلايا مع ظهور إرتشاحات للخلايا الالتهابية.

د- ظهور بعض الخلايا الالتهابية المحيطة بالقنوات الصفراوية المتنكسة فى المنطقة البابية مع وجود زيادة فى عدد خلايا كوفر.

٢- بالنسبة للكلى:

أ- حدوث ارتشاحات لخلايا الدم الحمراء وإحتقان الأوعية الدموية فى منطقة اتصال القشرة بالنخاع.

ب- احتقان الكبيبة *(glomerular)* والأوعية الدموية مع ظهور ارتشاحات لخلايا الدم الحمراء فى منطقة القشرة.

ج- احتقان الشعيرات الدموية مع ظهور ارتشاحات لخلايا الدم الحمراء بين الأنابيب المتحوصلة فى منطقة النخاع.

٣- بالنسبة للغدة الدرقية:

أ- إرتشاحات لخلايا الدم الحمراء بين وداخل تجويف الحويصلات مصاحب لذلك حدوث تنكس وسقوط للخلايا الطلائية المبطنة للحويصلات داخل تجويف الحويصلات.

ب- ظهور بعض الخلايا الالتهابية فى تجويف الحويصلات.

ج- تليف وضمور بعض الحويصلات وتحوصل البعض الآخر.

٤- بالنسبة للخصية:

انخفاض في نشاط الأنيبيبات المنوية مصاحب لذلك عدم اتمام عملية تكوين الحيوانات المنوية.

وجدير بالذكر هنا أن نتائج الفحوص الهستوباثولوجية أكدت اتجاهات نتائج الدراسات الكيميائية والفسيولوجية فى إحداث أضرار صحية متباينة حسب التركيز المستخدم.

المصطلحات

[A]

A sexual reproduction	التكاثر اللاجنسي
Above ground competition	المنافسة فوق الأرض
Absorption barriers	حواجز الامتصاص
Abutilon theophrasti	حشيشة القطيفة
Additive	أضافي
Age spectrum	طيف أو مدي العمر
Agroecosystem	النظام البيئي الزراعي
Alien substance	مادة دخيلة
Alien weed	حشيشة دخيلة
Allelopathy	الاالليلوباتية
Allopatric and sympatric speciation	التنوعية الجغرافية والمعلية
Alternating temperature	درجات الحرارة البديلة
Amaranthaceae	فصيلة عرف الديك
Amphoteric	امفوتيرية
Angiosperms	مغطاه البذور
Annedation	تكامل استخدام المصادر
Annual weed	الحشائش الحولية
Anomalous	غير سوي
Antagonism	تثبيطي
Anticipating characteristic	الخصائص المتوقعة (المشتركة)
Antidote	ترياق
Antidrift agents	مواد مقاومة للانجراف
Antifoam agents	مواد مانعة للرغوة
Antifungi	مضاد للفطريات
Antimicrobial	مضاد للبكتريا
Antioxidant	مضادات التأكسد
Apical dominance effect	تأثير السيادة القمية
Aquatic weeds	الحشائش المائية
Arid	قاحلة

[B]

Banding	التحزيم
Below ground competition	المنافسة تحت الأرض
Biennials	الحشائش ثنائية الحول
Binomial names	التقسيم العلمي
Biochemical make up	البنية البيوكيميائية
Bioherbicide	مبيد حشائش حيوي
Broad cast coverall	تغطية شاملة
Broad leaf	عريضة الأوراق
Broadcast	النثر
Buckling	التواء
Burn-down	يحرق

[C]

Calmination	الذروة
Canopy	المجموع الخضري
Chronological	التطور الزمني
Coalitive	اندماجي
Coleoptile	غمد
Colloids	غرويات
Cometabolism	التمثيل المرافق
Community	المجتمع
Community yield	الناتج المشترك
Compatibility	التوافق
Competitiveness	التنافسية
Constant associates	ملازمات ثابتة
Creeping	الحشائش المعمرة الزاحفة
Crop residues	مخلفات المحصول
Crop-monoculture	زراعة المحصول الواحد

[D]

Decision models	نماذج اتخاذ القرار
Decomposition	الانهيار

Degradation	انهيار
Desiccation	التجفيف
Detoxification	فقد السمية
Dicationic	ثنائي الكاتيون
Dicotyledon	ثنائية الفلقات
Diffusion	انتشار
Directed spray	الرش الموجه
Dominants	السائدات
Dormancy	السكون
Dry flowable DF	التدفقات الجافة

[E]

Ecological perspective	المنظور الايكولوجي
Ecological succession	التتابعات البيئية
Economic threshold	الحد الحرج الاقتصادي
Ecosystem	النظام البيئي
Ecotypes	الطراز الايكولوجية
Edge effects	تأثير الحافة
Effects of correlative inhibition	تأثيرات التثبيط المرتبط
Emulsifiers	مواد مستحلبة
Emuslifiable concentrate	مركز قابل للاستحلاب
Encapsulated	كبسولات
Enforced dormancy	السكون المدفوع
Environmental heterogeneisty	عدم التجانس البيئي
Enzym catalyst	محفز الأنزيم
Equidistant pattern	نظام الزراعة علي مسافات متساوية
Exotic	خارجي
Exudation	النضج

[F]

Food reserves	مخزون الغذاء
Formulations	المستحضرات

[G]

Gemnosperms	عاريات البذور
Genetically controlled	السيطرة الوراثية
Germination	إنبات
Gradient	نظام تدرج
Growth regulating substances	تأثير المواد المنظمة للنمو
Guard cells	الخلايا الحارسة

[H]

Herbigation	الري الكيميائي بمبيد الحشائش
Hierarchy of biosystems	التسلسل الهرمي للنظم الحيوية
Hierarchy of the plant kingdom	التسلسل الهرمي للمملكة النباتية
Hill reaction	تفاعل هيل
Hook stage	مرحلة الخطاف
Hyperidization	التهجن

[I]

Incidental metabolism	التمثيل العرضي
Incursion	العزو
Independent	مستقل
Indigenous	داخلي
Induced dormancy	السكون المحفز
Inherent	اصلي
Inherent variability of weeds	الاختلافات الوراثية في الحشائش
Innate dormancy	السكون المتأصل أو الفطري
Inoculative	تطعيمي
Intercropping	التحميل المحصولي
Invert emulsions	المستحلب المعكوس

[L]

Leaching	الغسيل
Lignified	مللجننة
Limiting factors	العوامل المحددة
Longevity	الدوام

[M]

Mass exposure	الإغراق
Maturity	البلوغ – النضج
Mesophytic weeds	حشائش المراعي الطبيعية
Microflora & microfauna	الأحياء الدقيقة في التربة
Monocodyledoneae	وحيد الفلقة
Monoculture	زراعة أحادية الصنف
Morphology	الشكل الظاهري
Mycoherbicides	مبيدات الحشائش الفطرية

[N]

Native	متوطن
Nutrition	التغذية

[O]

Off shoots	خلفات
One-sided interaction	تداخل أحادي الجانب
Orientation	التوجيه
Oxidation	أكسدة

[P]

Parasitic weeds	حشائش متطفلة
Parenchyma	الخلايا البارانشيمية
Penetration	نفاذية
Perennials	المعمرات
Periodicity	الوقتية – الدورية
Phloem	اللحاء
Photodecomposition	التحلل الضوئي
Photosynthate	مواد البناء الضوئي
Photosystem	نظام الضوء
Phytotoxins	السموم النباتية
Pioneer stage	مرحلة الريادة
Pits	نقر
Placement selectivity	الاختيارية الموضعية
Ploidy relationships	العلاقات الكروموسومية في التكاثر
Polarity	القطبية
Populations	المجاميع الحية

Postemergence	بعد الانبثاق
Precociousness	النضج المبكر
Preemergence	قبل الانبثاق
Preplanting	قبل الزراعة
Pubescence	الشيخوخة

[R]

Range land weeds	حشائش المراعي الطبيعية
Recerculation	إعادة تدوير
Recipient	المستقبل
Reduced persistence	الثبات المنخفض
Reduction	اختزال
Relative freedom from pests	الخلو النسبي من الآفات
Replacement designs	التصميمات الاحلالية
Restoration	تجديد
Retention	المسك
Role of apomixes	دورة التكاثر اللاجنسي
Rosettes	المجموع الزهري

[S]

Safners	مؤمنات
Screening	التفرقة
Seed bank	بنك البذور
Seed killers	مواد قاتلة للبذور
Seed treatment	معاملة البذور
Selectivity	اختيارية
Self fertilization	الإخصاب الذاتي
Semi-arid	شبه قاحلة
Shoot dominance effect	تأثير سيادة الساق
Sieve cells	خلايا المنخل
Simulation	محاكاه
Simultaneously	في نفس الوقت
Soil amendfements	مصلحات التربة
Solubility	ذوبانية

Sorption coeffecient	معامل الامتصاص
Spermatophytina	نباتات تنتج البذور
Spreaders	مواد ناشرة
Spyders	جرافات
Staircase	الترتيب السلمي
Standard specifications	مواصفات قياسية
Stomata	ثغور
Stress	الإجهاد
Surfactants	مواد ذات نشاط سطحي
Survival vs. competition	البقاء في مقابل المنافسة
Sustainable agriculture	الزراعة المستدامة
Synchronization	التزامن
Synergism	التنشيط
Systemic	جهازي

[T]

Taproot	جذر وتدي
Terrestrial weeds	الحشائش الأرضية
Tillage	العزيق
Tolerant	متحمل
Tracheids	قصيبات
Trailing weeds	الحشائش المدادة
Translocation	الانتقال

[U]

Units of measurements	وحدات القياس
Upward	لأعلي

[V]

Vessels	أوعية
Viable propagules	أجزاء التكاثر الحية
Volatilization	التطاير

[W]

Waste land weeds	حشائش الأرض المهجورة

Water dispersible granules (WDG)	المحببات القابلة للانتشار والتعلق في الماء
Water dispersible liquids	السوائل القابلة للانتشار في الماء
Weed density	كثافة الحشائش
Weed killers	مواد قاتلة للحشائش
Weed management	السيطرة علي الحشائش
Weed suppressants	خافضات تعداد الحشائش
Weed's ecological niche	المكان الايكولوجي الملائم للحشائش
Weed's Eye view	الرؤية العينية للحشائش
Weediness	العشبية
Wetling agents	مواد مساعدة علي البلل
Wettable powders (WP)	مساحيق قابلة للبلل

[X]

Xylem	الخشب

۞ المراجع العربية ۞

الآفات الحشرية والحيوانية الناقلة لمسببات الأمراض المستوطنة	١٩٩٥
وقاية النبات والأمن الغذائي	١٩٩٥
السمية البيئية والتفاعلات الحيوية والكيمائية والبيئية	١٩٩٥
التسمم الغذائي والملوثات الكيماوية	١٩٩٩
أساسيات وطرق تحليل مبيدات الآفات	١٩٩٩
انقلاب الجنس وفقد المناعة بين المبيدات والهرمونات	١٩٩٩
المكافحة المستنيرة للأمراض النباتية بين الحاضر والمستقبل	١٩٩٩
هموم الإنسان والبيئة (المبيدات/الديوكسينات/الدخان الأسود/التليفون المحمول)	٢٠٠٠
فساد الأرض وتدمير الإنسان (المبيدات/المخدرات/الأدوية/الهندسة الوراثية)	٢٠٠٠
المبيدات الفطرية ومكافحة الأمراض النباتية	٢٠٠٠
ترشيد المبيدات في مكافحة الآفات	٢٠٠٠
الموارد المائية والاتساخ بالمبيدات	٢٠٠٠
مخاطر المبيدات علي الصحة العامة والبيئة (بين التقويم والإدارة)	٢٠٠٢
التكنولوجيا الحيوية والجزيئية في مجابهة الآفات الزراعية والاجهادات البيئية	٢٠٠٢
السموم النباتية ومكافحة الآفات	٢٠٠٢
نسخ وتقليد المبيدات	٢٠٠٣
وبائية التعرض المزمن للمبيدات بين الصحة العامة والبيئة	٢٠٠٣
مستحضرات وتطبيقات المبيدات بين القديم والحديث	٢٠٠٣
بكتيريا باسيلليس ثورينجينسيز رائدة المبيدات الحيوية	٢٠٠٣
الإدارة المتكاملة لمكافحة أفات نخيل التمر	٢٠٠٤
تخليق وتصنيع المبيدات ٢ج	٢٠٠٤
الجاذبات الجنسية "الفورمونات"	٢٠٠٤
الإدارة المتكاملة في مكافحة الأعشاب "الحشائش" الضارة	٢٠٠٥
مقاومة الآفات لفعل المبيدات (المشكلة والحلول)	٢٠٠٥

← جميع المراجع السابقة للأستاذ الدكتور/ **زيدان هندي عبد الحميد**

أستاذ كيمياء المبيدات والسموم ــ كلية الزراعة جامعة عين شمس

الاتجاهات الحديثة للمبيدات ومكافحة الحشرات ٢ج — ١٩٩٥
أ.د. زيدان هندي - أ.د. محمد عبد المجيد
إنتاج القطن ونظم السيطرة المتكاملة على الآفات — ١٩٩٦
أ.د. زيدان هندي وأخرون
الملوثات الكيميائية والبيئية — ١٩٩٦
أ.د. زيدان هندي - أ.د. محمد عبد المجيد - أ.د. محمد فوزي الشعراوي



أ.د. زيدان هندى عبد الحميد

* بكالوريوس العلوم الزراعية "حشرات" كلية الزراعة جامعة عين شمس ١٩٦٣ .
* ماجيستير العلوم الزراعية "كيمياء مبيدات" كلية الزراعة جامعة عين شمس ١٩٦٦ .
* دكتوراه فلسفة العلوم الزراعية جامعة "مبيدات الآفات" كلية الزراعة جامعة عين شمس ١٩٦٩ .
* مدرس فى علوم وقاية النبات ١٩٦٩ - ١٩٧٤ بكلية الزراعة جامعة عين شمس .
* أستاذ مساعد فى علوم وقاية النبات ١٩٧٤ - ١٩٧٩ بكلية زراعة جامعة عين شمس .
* أستاذ فى علوم وقاية النبات ١٩٧٩ وحتى الآن بكلية الزراعة جامعة عين شمس .
* وكيل كلية الزراعة جامعة عين شمس لشئون الدراسات العليا ١٩٩٢ - ١٩٩٨ .
* مستشار علمى لشركة سوميتومو كيميكل اليابانية للمبيدات منذ ١٩٧٨ وحتى الآن فى مصر والدول العربية .
* المشاركة فى معظم المؤتمرات المحلية والعالمية فى مجالات وقاية النبات - كيمياء المبيدات - المكافحة المتكاملة للآفات - المشاكل الخاصة بالتلوث البيئى .
* المشاركة فى العديد من الدورات الخاصة بالتوعية بمخاطر المبيدات والملوثات البيئية الأخرى فى مصر والدول العربية الأخرى .
* الاشتراك فى المشروعات القومية الخاصة بالمكافحة المستنيرة للآفات والتلوث البيئى والمكافحة الحيوية للآفات .
* عضو فى العديد من الجمعيات فى مجالات وقاية النبات والبيولوجية الجزيئية وكيمياء المبيدات والتوكسيكولوجى والمبيدات والتلوث البيئى

* بعض مما نشر لـ أ.د. زيدان هندى

١) الاتجاهات الحديثة المبيدات ومكافحة الحشرات ٢ ج. — ١٩٩٥
٢) الآفات الحشرية والحيوانية . — ١٩٩٥
٣) الملوثات الكيميائية والبيئية — ١٩٩٦
٤) التسمم الغذائى والملوثات الكيماوية . — ١٩٩٩
٥) أساسيات وطرق تحليل مبيدات الآفات . — ١٩٩٩
٦) انقلاب الجنس وفقد المناعة بين المبيدات والهرمونات . — ١٩٩٩
٧) السمية البيئية والتفاعلات الحيوية للكيمائيات والمبيدات — ٢٠٠٠
٨) المكافحة المستنيرة للأمراض النباتية . — ٢٠٠٠
٩) فساد الأرض وتدمير الانسان . — ٢٠٠٠
١٠) هموم الانسان والبيئة . — ٢٠٠٠
١١) الأمراض الفطرية ومكافحة الأمراض النباتية . — ٢٠٠٠
١٢) الموارد المائية والاتساخ بالمبيدات . — ٢٠٠١
١٣) ترشيد المبيدات فى مكافحة الآفات . — ٢٠٠١
١٤) التكنولوجيا الحيوية والجزئية فى مجابهة الآفات الزراعية والاجهادات البيئية — ٢٠٠٢
١٥) مخاطر المبيدات على الصحة العامة والبيئة . — ٢٠٠٢
١٦) السموم النباتية ومكافحة الآفات . — ٢٠٠٢
١٧) نسخ وتقليد المبيدات — ٢٠٠٣
١٨) وبائية التعرض المزمن لمبيدات بين الصحة العامة والبيئة
١٩) مستحضرات وتطبيقات المبيدات بين القديم والحديث
٢٠) بكتيريا باسيلليسث ورينجينسيز رائدة المبيدات الحيوية
٢١) الادارة المتكاملة لمكافحة افات نخيل التمر
٢٢) تخليق وتصنيع المبيدات ٢ ج
٢٣) الجاذبات الجنسية "الفورمونات" فى الادارة المتكاملة للافات الحشرية
٢٤) الادارة المتكاملة فى مكافحة الأعشاب "الحشائش" الضارة
٢٥) مقاومة الافات لفعل المبيدات (المشكلة واحلول)
٢٦) الأمان النسبى للمبيدات الميكروبية والحيوية
٢٧) إدارة التعامل مع التسمم بالمبيدات
٢٨) التأثيرات الصحية والبيئية للمبيدات والغازات فى حرب الخليج
٢٩) المرشد فى مكافحة أفات المنازل والصحة العامة